ENZYMHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN DER DARMSCHLEIMHAUT VON KÄLBERN NACH EXPERIMENTELLER INFEKTION MIT ROTA VIREN UND E.COLI IN VERSCHIEDENEN KOMBINATIONEN

Maria Theresia Stiglmair
aus Augsburg

München 1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546814_0022

Aus dem Institut für Tierpathologie
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. J. von Sandersleben

ENZYMHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN DER DARMSCHLEIMHAUT VON KÄLBERN NACH EXPERIMENTELLER INFEKTION MIT ROTA VIREN UND E.COLI IN VERSCHIEDENEN KOMBINATIONEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Maria Theresia Stiglmair
aus Augsburg

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. G. Terplan

Referent: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Korreferent: Prof. Dr. H.K. Dennig

Tag der Promotion: 25. Februar 1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
LITERATUR	3
A. Membranständige Enzyme	3
1. Alkalische Phosphatase	3
1.1. Geschichtlicher Überblick	3
1.2. Allgemeines	3
1.3. Vorkommen im Darm	4
1.3.1. Verhalten im gesunden Darm	4
1.3.2. Verhalten der AP bei Darmerkrankungen	10
1.4. Funktionsweise im Darm	11
2. Saure Phosphatase	12
2.1. Geschichtlicher Überblick	12
2.2. Allgemeines	13
2.3. Vorkommen im Darm	14
2.3.1. Verhalten im gesunden Darm	14
2.3.2. Verhalten der SP bei Darmerkrankungen	18
2.4. Funktionsweise im Darm	19
3. Leucinaminopeptidase	20
3.1. Geschichtliches	20
3.2. Allgemeines	20
3.3. Vorkommen im Darm	21
3.3.1. Verhalten im gesunden Darm	21
3.3.2. Verhalten bei Darmerkrankungen	24
3.4.	25
4. ß-Galactosidase	26
4.1. Geschichtliches	26
4.2. Allgemeines und Funktionsweise	26
4.3. Vorkommen im Darm	29
4.3.1. Verhalten im gesunden Darm	29
4.3.2. Verhalten der ß-Galactosidase bei Darmerkrankungen	32

Seite

B. Zytoplasmatische Enzyme 32

Succinatdehydrogenase 32
1. Geschichtliches 32
2. Allgemeines und Funktionsweise 33
3. Vorkommen im Darm 34
3.1. Verhalten im gesunden Darm 34
3.2. Verhalten der SDH bei Darmerkrankungen 36

EIGENE UNTERSUCHUNGEN 37

A. Material und Methodik 37
a. Untersuchte Tiere 37
b. Histochemische Methodik 41
1. Alkalische Phosphatase 42
2. Saure Phosphatase 42
3. Leucinaminopeptidase 43
4. ß-Galactosidase 43
5. Succinatdehydrogenase 44

B. ERGEBNISSE 46

I. Kontrolltiere 46
II. Infektion mit Rota Virus 52
III. Infektion mit E.coli 58
IV. Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli 64
V. Infektion mit E.coli und anschließend Rota Virus 68
VI. Mischinfektion: Rota Virus und E.coli gleichzeitig 74
Tabellen 80

DISKUSSION 89

ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY 102

LITERATURVERZEICHNIS 105

EINLEITUNG

Die Diarrhoe des neonatalen Kalbes hat in den vergangenen Jahren z.T. sicher aufgrund der veränderten Haltungsbedingungen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Die Mehrzahl der beim Kalb in den ersten Lebenswochen diagnostizierten Durchfallerkrankungen ist nicht auf eine Infektion mit E.coli alleine zurückzuführen, wie bereits Jensen 1889 erstmals feststellte. Vielmehr handelt es sich meist um eine primäre Virusinfektion (Moon et al 1978; Pohlenz et al 1979) bzw. um eine gleichzeitige Infektion von Viren und enteropathogenen E.coli (Halpin u. Caple 1976; Baljer u. Bachmann 1980). Das dabei am häufigsten nachgewiesene Virus ist das 1969 von Mebus und Mitarbeitern zum erstenmal beschriebene Rota Virus (Morin et al 1976; Wohlgemuth 1977; Bachmann 1980).

Ergebnisse bisher veröffentlichter pathologisch - anatomischer und histochemischer Untersuchungen stammen überwiegend von Tieren, die sich natürlich infizierten (Abel et al 1972; Halpin u. Caple 1976; Landsverk 1980, 1981 a,b,c; Zindel 1980), experimentelle Daten fehlen.

Im Verlauf einer enteralen Infektion treten Funktionsstörungen der Darmepithelien auf. In diesem Zusammenhang sind die an der Resorption beteiligten Enzyme von besonderer Bedeutung. Die Überprüfung einer Auswahl enterozytärer Enzyme soll Aufschluß geben über Funktions-und Entwicklungszustand der resorptiven Darmzellen.

Die Enzyme wurden gemäß ihrer Bedeutung für die Nährstoffaufnahme aus dem Darmlumen ausgewählt (Mylrea 1966). Alkalische und Saure Phosphatase sind maßgeblich an Transportvorgängen im Rahmen der Zucker- und Lipidresorption (Crane 1968; Jonek et al 1972), die Leucinaminopeptidase an der Peptidspaltung (Clark 1959) und die ß-Galactosidase an der

Laktose-Verdauung (Asp et al 1971) beteiligt. Die Succinatdehydrogenase wurde als Parameter für den Funktionsgrad des Zellstoffwechsels (Hanstein u. Davies 1971) untersucht.

Die Untersuchungen sollen einen Einblick in das Enzymmuster des gesunden neonatalen Darms kolostrumfrei ernährter Kälber gewähren und zeigen, welche enzymatischen Veränderungen experimentelle Infektionen hervorrufen.

LITERATUR

A. Membranständige Enzyme

1. Alkalische Phosphatase (AP)

1.1. Geschichtlicher Überblick

Als erste enzymhistochemische Methode entwickelten 1939 Gomori und Takamatsu unabhängig voneinander den Nachweis der AP. In den folgenden Jahren verbesserten unter anderem Kabat und Furth (1941), Deane und Dempsey (1945), Moog (1951, 1962) Johnson und Kugler (1953) die Methode und vervollständigten das Organspektrum. Burstone (1958) verwendete erstmals die simultane Azokupplungsmethode. Dabei handelt es sich um eine 2-Schritt-Reaktion. In der Primärreaktion wird das angebotene Substrat, meist ein Naphtholderivat, gespalten. In der Sekundärreaktion verbindet sich ein Diazoniumsalz mit dem primären Reaktionsprodukt. Es entsteht ein wasserunlöslicher Azofarbstoff.

Der erste ultrastrukturelle Nachweis gelang Brandes und Mitarbeiter 1956.

1.2. Allgemeines

1.2.1. Biochemie

Biochemisch gehört die AP (E.C.3.1.3.1)*, ein Glykoprotein, zu den Phosphomonoesterasen. Sie besitzt nur eine geringe Spezifität und spaltet neben Purin- und Pyrimidinnucleotiden unter Freisetzung von organischem Phosphat auch Zukkerphosphate und Phosphatidsäuren (Crane 1968, Moog und Glazier 1972, Buddecke 1980, Pearse 1972). Ferner wirkt

*Enzyme Nomenclature 1972

sie als Katalysator einer Reihe von transphosphorylierenden Reaktionen, wie z.B. bei der Synthese von Phosphatestern, wo sie Phosphatgruppen von Phosphomonoestern direkt auf geeignete OH-Gruppen überträgt (Morton 1958). Ihr pH-Optimum liegt zwischen 9,2 und 9,8 (Lojda et al 1976).

1.2.2. Vorkommen

Das in mehreren Isoenzymen (Moog und Grey 1968, Wilkinson 1970) vorkommende Ferment tritt vor allem in Zellmenbranen auf, in denen aktive Transportvorgänge ablaufen, z.B. in den proximalen Tubulusepithelzellen der Niere, in der dem Gallengang zugewandten Zellmembran der Leberzellen, in Osteoblasten, im Kapillar- und Arteriolenendothel, im Bürstensaum der Darmepithelzellen, in Plazentaepithelzellen, Mammaepithel sowie frei im Serum (Mölbert et al 1960, Klein 1971, Lojda et al 1976, Buddecke 1980).

1.3. Vorkommen im Darm

1.3.1. Verhalten im gesunden Darm

1.3.1.1. Lokalisation

Bereits in den ersten histochemischen Untersuchungen (Kabat u. Furth 1941, Deane u. Dempsey 1945, Moog 1951, Gomori 1953) wird von einer starken Aktivität im Duodenum und Jejunum von Säugetieren und Vögeln berichtet. Moog (1951) beschreibt die besonders deutliche Reaktion des Bürstensaums im Duodenum der Maus. Dies konnte von Brandes u. Mitarbeitern (1956) sowie Mölbert u. Mitarbeitern (1960) durch elektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt werden. Später wurde dies auch für Maus (Clark 1961), Hamster (Holt u. Miller 1962), Ratte

(Clark u. Porteous 1963) und Katze (Fowler u. Rohouvsky 1970) nachgewiesen.

1.3.1.1.1. Epithelzelle

In den Enterozyten von Ratte, Hund und Katze tritt die AP sowohl im apikalen Bürstensaum als auch im Zytoplasma auf (Novikoff et al 1952, Johnson u. Kugler 1953). Dabei ist stets die Reaktion im supranukleären Raum deutlich stärker als im infranukleären.

Durch eine Azofärbung wird erstmals von Jervis (1963) der enzymhistochemische Nachweis der AP in Mikrovilli und Golgizone geführt. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von Mäusedarm werden von Chase (1963) neben dem Vorkommen von AP in Bürstensaummembran und Golgiapparat auch positive Granula im apikalen Zytoplasma erwähnt, die Clark (1961) lichtmikroskopisch beschrieb.

Durch die Einführung einer direkten Bleireaktion (Hugon u. Borgers 1966a) konnten wesentlich verbesserte feinstrukturelle Auswertungen durchgeführt werden. Im Duodenum der Maus trat neben der stark positiven Reaktion in den Mikrovilli der Enterozyten auch auf deren Oberfläche ein deutlich positiver Saum auf (Chase 1963), Hugon u. Borgers 1966a, b, Lojda 1971), wie er auch bei Katze, Hund und Ratte bereits beschrieben worden war (Johnson u. Kugler 1953).Dies gilt auch für den Menschen (Hugon u. Borgers 1968b, Ono u. Yokota 1971, Dongen van et al 1977). Am Dünndarm des Rindes wird dies erstmals von Morales (1980) beschrieben. Im Zytoplasma des Zottenepithels ist die AP neben dem Golgiapparat auch im glatten Endoplasmatischen Retikulum, in "multivesicular" und "dense bodies" sowie in apikalen Vesi-

keln zu finden (Hugon u. Borgers 1966a,b, Lojda 1971).

Funktionell haben diese von Deane u. Dempsey (1945) erstmals beschriebenen apikalen, positiv reagierenden Granula die Bedeutung von Lysosomen (Hugon u. Borgers 1968a).

Weder in der lateralen Zellmembran noch im Kern von Enterozyten konnte ein Enzymnachweis geführt werden (Hugon u. Borgers 1966b). Damit werden Ergebnisse (Chase 1963, Deane 1963) bekräftigt, wonach es sich bei dem Auftreten von AP im Kern (Gomori 1939) um eine falsch positive Reaktion handelt.

Untersuchungen am Dünndarm anderer Tierarten, z.B. Ratten, Hamster, Meerschweinchen (Hugon u. Borgers 1968a, Ono 1974) und Katze (Fowler u. Rohouvsky 1970) erbrachten genau das gleiche Enzymverteilungsmuster wie in Enterozyten des Mäuseduodenums.

Die Untersuchung von Enterozyten des menschlichen Intestinums zeigt, daß Übereinstimmung im Auftreten von AP bei Mensch und Nagern besteht (Hugon u. Borgers 1968b).

Nach Zellfraktionierung und quantitativer Enzymanalyse zeigt sich, daß AP auch in Zellmembranen auftritt (Batt u. Peters 1978). Dazu lagen bisher widersprüchliche Ergebnisse vor (Clark 1961, Millington u. Brown 1967, Fowler u. Rohouvsky 1970, Ono u. Yokota 1971, Helander 1975, van Dongen et al 1977). Als Ursache dafür werden Unterschiede in der Färbetechnik diskutiert (Fowler u. Rohouvsky 1970).

Nach Ono (1974) ist das Vorkommen von AP teilweise von der Fütterung abhängig: bei hungernden Ratten ist die seitliche Zellmembran nur im Duodenum positiv, nach Fett- und Proteinfütterung im gesamten Dünndarm. Mit der Anfärbbarkeit des Golgiapparats im Jejunum verhält es sich analog (Ono 1974).

An Enterozyten des Rinderdarms tritt die AP auf der luminalen Oberfläche und im supranukleären Zytoplasma von Dünn- und Dickdarm auf (Morales 1980). Landsverk (1980) bestätigt diesen Befund für Duodenum und die beiden ersten Drittel des Jejunums. Im letzten Drittel des Dünndarms findet er nur mehr vereinzelte positive Areale.

1.3.1.1.2. Verteilung Zotte/Krypte

Bereits Johnson und Kugler (1953) und Fowler und Rohouvsky (1970) stellten bei Hund und Katze eine stärkere Konzentration der AP in Enterozyten an der Zottenspitze fest. Auch bei der Maus (Moog u. Grey 1967, Nordström et al 1967), bei Ratte (Nordström et al 1968, van Dongen et al 1977, Gutschmidt et al 1980), beim Ferkel (Hornich et al 1974) sowie beim Menschen (Dawson u. Pryse-Davies 1970, Nordström u. Dahlquist 1973) wird über eine derartige Verteilung nach quantitativer und semiquantitativer Bestimmung berichtet. Padykula (1962) interpretiert diesen Aktivitätsanstieg als einen Ausdruck der zunehmenden Differenzierung der apikalen Zellmembran. Beim Kalb dagegen soll sich im Duodenum und Jejunum die AP gleichmäßig über die ganze Zotte verteilen, nur im Ileum reagieren die Zellen an der oberen Zottenhälfte stärker (Zindel 1980).

Einzelne Epithelzellen an den Zottenspitzen weisen keine Enzymaktivität auf (Hugon u. Borgers 1968a). Offenbar tritt vor der physiologischen Desquamation dieser Zellen ein Sistieren der Enzymsynthese als Folge einer m-RNA Blockade ein.

Über das Auftreten der AP in den Kryptepithelzellen existieren recht unterschiedliche Berichte: bei der Maus (Hugon u. Borgers 1966a,b) und Ratte (van Dongen et al 1977) ist zwar in der unteren Hälfte der Krypten keine Aktivität nach-

weisbar, wohl aber in der oberen. Im Gegensatz dazu beschreiben Nordström u. Mitarbeiter (1968) die Kryptepithelzellen als durchwegs negativ. Zum gleichen Ergebnis kommen Hornich u. Mitarbeiter (1974) beim Ferkel. Die Überprüfung des Darms von Affen (Floch et al 1967) erbrachte einen schwachen Enzymgehalt in den Krypten. Beim Menschen (Dawson u. Pryse-Davies 1970) konnten negative bis schwach positive Werte mit leichtem Anstieg zum Ileum hin gefunden werden. Dem widerspricht eine quantitative Auswertung (Nordström u. Dahlquist 1973), wo die Kryptenfraktion grundsätzlich frei von AP war.

Über das Verhalten der AP in den Krypten des Kalbes findet sich bei Zindel (1980) der Hinweis, daß bis zu 5% der Gesamtaktivität in den Lieberkühn'schen Krypten lokalisiert ist. Im Gegensatz dazu fand Landsverk (1980) keine Aktivität.

Dies gilt auch für Enterozyten der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten im Dünndarm (Landsverk 1981a).

1.3.1.1.3. Verteilung im Dünndarm

Über die gesamte Länge des Dünndarms betrachtet zeigt sich im Duodenum und vorderen Jejunum beim Kalb eine deutlich höhere Aktivität, die zur Mitte des Jejunums leicht, im Ileum aber deutlich abnimmt (Zindel 1980). Diese Ergebnisse stimmen mit den von Landsverk (1980) und Morales (1980) erhobenen Befunden überein. Analoge Angaben existieren für das Verhalten der AP am Darm des Menschen (Dawson u. Pryse-Davies 1970, Nordström u. Dahlquist 1973), der Maus (Moog u. Grey 1967) sowie des Hundes und der Katze (Johnson u.Kugler 1953). Ono und Yokota (1971) konnten im Ileum von Ratten keine AP mehr nachweisen. Im Gegensatz dazu stehen die Angaben von Fowler u. Rohouvsky (1970), daß die Enzymaktivität bei der Katze im gesamten Dünndarm gleich bleibt.

1.3.1.2. Altersabhängigkeit der Enzymaktivität

Die AP ist am ersten Lebenstag bereits vorhanden. Bei der Maus ist das Enzym sogar schon am 14. Tag der Gravidität an der apikalen Zellmembran nachweisbar (Moog 1951, Hugon u. Borgers 1969). Bis zum 16. Tag erfolgt ein steiler Anstieg, insbesondere im Duodenum, bis zum 20fachen (Moog 1951). Diese Entwicklung geht mit der Reifung der Mikrovilli (Overton et al 1965) einher. Um den 18. Tag können im apikalen Zytoplasma stark positive Tubuli und Vesikel unterschieden werden, es wird ein Zusammenhang mit der Glykogenspeicherung vermutet (Hugon u. Borgers 1969).

Die apikalen Strukturen bleiben bis zum 14. Tag p.p. bestehen, danach bildet sich allmählich das typische feinstrukturelle Enzymmuster des adulten Tieres (Ono 1975).

Wie bereits angesprochen, gelingt der Nachweis der AP sofort post partum sowohl bei Ferkel (Sprague et al 1963) als auch bei Ratte (Helander 1975, Ono 1975, Raul et al 1977, Hasegawa et al 1979) und Maus (Moog u. Grey 1967, Hugon u. Borgers 1969). Nach der Geburt erfolgt ein Anstieg bis zur dritten Lebenswoche (Moog u. Yeh 1973, Hornich et al 1974, Raul et al 1977), danach ein langsamer Abfall zum Wert der adulten Tiere. In der Zeit der höchsten Aktivität weisen die ansonsten negativen Kryptepithelzellen eine leicht positive Reaktion auf (Moog u. Yeh 1973, Raul et al 1977). Die Aktivität im Zottenepithel zeigt das gleiche Verteilungsmuster wie beim erwachsenen Tier (Hornich et al 1974, Raul et al 1977). Zum Zeitpunkt der Geburt scheint der graduelle Unterschied im Enzymvorkommen auf die Länge des Darms verteilt, relativ gering zu sein (Hasegawa et al 1979).

Sprague u. Mitarbeiter (1963) berichten von etwas höherer Aktivität im mittleren Jejunum beim Ferkel. Hornich u. Mitarbeiter (1974) verzeichnen einen leichten Anstieg zum Ileum

hin bei derselben Tierart. Mit zunehmenden Alter ist die AP allerdings dann bei Ratten im Ileum nicht mehr nachweisbar (Hasegawa et al 1979), was die Ergebnisse von Ono und Yokota (1971) bestätigt. Ono (1975) sieht einen Zusammenhang mit dem Absetzen vom Muttertier.

1.3.2. Verhalten der AP bei Darmerkrankungen

Über das Verhalten der AP in Enterozyten bei Darmerkrankungen ist relativ wenig bekannt. Bei bis zu 3 Wochen alten Kälbern mit akuter Diarrhoe ist die Aktivität im gesamten Darm vermindert. Im Duodenum und Jejunum sind noch etwa 2/3, im Ileum nur mehr 10% des Kontrollwertes nachweisbar. Hier ändert sich auch das Verteilungsmuster an der Zotte: allein die Spitze reagiert positiv (Zindel 1980). Nur drei von acht spontan an Diarrhoe erkrankten bis zu fünf Wochen alten Kälbern zeigen eine Enzymreduktion im Bürstensaum des Duodenums. Das Enzymmuster rekonvaleszenter Tiere entspricht dem gesunder (Landsverk 1981c).

Bei Ferkeln mit natürlicher E.coli-Infektion beobachteten Hornich u. Mitarbeiter (1974) - parallel zur Zottenverkürzung - zwischen dem 10. und 20. Tag p.p. eine Abnahme der AP. Nach intensiver Röntgenbestrahlung kam es zu einem Abfall (van Dongen et al 1977) bis zum völligen Fehlen bei gleichzeitiger Zottenatrophie (Luz u. Gössner 1973). Subzelluläre Veränderungen waren nicht zu erkennen (van Dongen et al 1977).

Auffallend war, daß es bei Patienten mit ideopathischer Steatorrhoe trotz Zottenverkürzung keine Aktivitätsverringerung der AP in den verbleibenden Enterozyten (Spiro et al 1964) gab. Ähnliche Beobachtungen machten Padykula u. Mitarbeiter (1961).

Michael (1974) berichtet von einer ausgeprägten Zunahme der AP in sogenannten "hypergenerative cells" während der Schleimhautregeneration nach Coccidieninfektion beim Geflügel.

Einen Anstieg der AP bei generalisierten, bakteriellen Infektionen vermuten Lust u. Beisel (1967), die nach einer Infektion von Mäusen mit Diplococcus pneumoniae eine Zunahme von AP im Serum um bis zu 40% und im Dünndarm um bis zu 65% beobachteten. Die übrigen untersuchten Organe waren unverändert. Sie sahen darin einen Zusammenhang mit dem erhöhtem Zellturnover während der Infektion.

Offensichtlich tritt eine Zunahme der AP jedoch nicht nur bei Infektionen auf: Jonek u. Mitarbeiter (1972) sahen 30 - 60 min. nach einer Intoxikation von Mäusen mit Benzen eine Aktivitätssteigerung. Sie führten dies auf eine metabolische Stimulation und den Versuch zurück, die Absorptionsleistung der Zelle zu erhöhen.

1.4. Funktionsweise im Darm

Um die funktionelle Leistung der AP im Darm zu verstehen und eventuell Rückschlüsse auf das Krankheitsgeschehen ziehen zu können, ist es nötig noch kurz auf die Physiologie - soweit bekannt - einzugehen. Nach Wilkinson (1970) tritt die AP in mehreren Isoenzymen auf, die alle die gleiche Reaktion katalysieren und in den gleichen Spezies auftreten. Es handelt sich dabei um die Hydrolyse von phosphorilierten Molekülen, z.B. Zuckerphosphate und Nucleinsäuren, die anders die Zellmembran nicht durchdringen könnten (Crane 1968). Im Darm tritt die AP als ein thermolabiles, heterogenes Glykoprotein mit drei Untereinheiten auf (Saini u. Done 1972, Malik et al 1976, Gutschmidt et al 1980, Young et al 1980). Nach Young u. Mitarbeitern (1980) entsprechen den drei Untereinheiten verschiedene Lokalisationen: 1) membrangebunden,

2) frei im Darmlumen, 3) im Serum gelöst. Dabei liegen 90% der Gesamtaktivität in membrangebundener Form vor (Moog u. Grey 1967, Davies u. Flett 1978) und zwar hauptsächlich in den Mikrovilli (Hugon u. Borgers 1966a,b). Dieses Isoenzym entwickelt sich aus hydrolytisch inaktiven Vorläufern im apikalen Zytoplasma der Kryptepithelien (Wachsmuth et al 1974). Die löslichen Anteile stellen eine eigenständige Untereinheit dar. Sie weisen einen besonders hohen Anteil im distalen Jejunum der Ratte auf (Yedlin u. Alpers 1979, Young et al 1980b).

Nachdem in jüngerer Zeit von mehreren Autoren (Klein u. Drube 1967, Lojda et al 1970, Klein 1971, Linscheer et al 1971) die Vermutung geäußert wurde, daß die AP an aktiven Transportvorgängen und der Fettresorption beteiligt sei, gelang es zu zeigen, daß die löslichen Untereinheiten nach Fettverdauung vom Zytoplasma über die Lymphe (Klein et al 1967, Glickmann et al 1970) ins Blut übergehen (Neafsey u.Schwarz 1977, Young et al 1980a).

2. Saure Phosphatase (SP)

2.1. Geschichtlicher Überblick

Bereits 1941 führte Gomori den ersten enzymhistochemischen Nachweis der Sauren Phosphatase (SP) durch. Bis in die fünfziger Jahre waren alle Nachweismethoden mehr oder weniger unbefriedigend. Erst die Einführung neuer verbesserter histochemischer Färbungen, die durch einen veränderten pH-Wert und eine höhere Konzentration von Diazoniumsalzen die Reaktionsgeschwindigkeit beschleunigten und somit das Auftreten

von Diffusionsartefakten weitgehend vermieden (Burton 1954), konnte der Bedeutung der SP gerecht werden (Pearse 1972).

2.2. Allgemeines

2.2.1. Biochemie

Die Saure Phosphatase (E.C.3.1.3.2) ist wie die alkalische - eine Phosphomonoesterase. Sie katalysiert die Spaltung von Estern der Orthophosphosäure im sauren Milieu (pH 4-5). Darüber hinaus greift sie Pyrophosphatbindungen an und hat Transphosphorylaseaktivität (Lojda et al 1976).

2.2.2. Vorkommen

Im Organismus kommt die SP besonders reich in Nebenhoden, Prostata, Colon, Milz, Leberzellen, Niere, Ovar, Purkinjezellen des Gehirns und Schilddrüse vor (Rutenberg u. Seligman 1955, Lojda et al 1976). Eine schwache Reaktion ist in allen Zellen des Pankreas, im respiratorischen Epithel, in quergestreifter und glatter Muskulatur sowie in der Darmschleimhaut zu finden (Rutenberg u. Seligmann 1955). Auch Lymphozyten und Makrophagen (Barka 1963, Floch et al 1967) reagieren positiv. Der Zellkern ist stets negativ. In der Niere zeigen die proximalen und distalen Tubuli contorti im basalen Zytoplasma die stärkste Reaktion. Die Glomerula sind nur schwach positiv (Rutenberg u. Seligmann 1955).

2.3. Vorkommen im Darm

2.3.1. Verhalten im gesunden Darm

2.3.1.1. Lokalisation

Die ersten Angaben über das intrazelluläre Auftreten im Darm finden sich bei Deane u. Dempsey (1945) sowie Sheldon u. Mitarbeiter (1955). Sie berichten von einer starken Konzentration der SP im Mikrovillisaum der Enterozyten bei Mäusen. Dagegen beschreiben Holt u. Miller (1962) beim Hamster sowie Rutenberg u. Seligmann (1955), mit Hilfe der ersten Azokupplungsmethode, bei der Ratte eine mehr diffuse Verteilung im Zytoplasma der Enterozyten. Auch Moog (1959) bezweifelt die Aktivität im Bürstensaum, da diese Reaktion nicht wie bei der SP üblich durch Fluoridionen gehemmt werden kann. Burt u. Mitarbeiter (1957) glauben, daß es sich dabei um eine Untereinheit der AP handelt, die sich bei saurem pH-Wert darstellen läßt. Da auch neuere Untersuchungen recht unterschiedliche Ergebnisse bringen, ist an tierartliche Differenzen zu denken (Ono 1979). So konnten bei Ratten im Jejunum, nicht aber im Ileum (Ogawa et al 1962,Ono 1979) positive Niederschläge in den Mikrovilli gefunden werden. Helander (1975) konnte eine schwach positive Reaktion im Bürstensaum des Rattenkolons sehen. Auch beim Kalb zeigten die Mikrovilli des Duodenums bis mittleren Jejunums eine stark positive Reaktion (Landsverk 1980), ebenso bei Mensch und Affe (Floch et al 1967). Im Gegensatz dazu waren die Mikrovilli beim Ferkel negativ. Die Niederschläge, die bei Mensch, Nagern und Küken auftreten, werden als irreguläre Präzipitate interpretiert (Hugon u. Borgers 1967, 1968a,b, 1969, Hornich et al 1974).

2.3.1.1.1. Epithelzelle

Lichtmikroskopisch konnte im Zytoplasma von Mensch (Spiro et al 1964, Klein et al 1967, Floch et al 1970), Katze (Fowler u. Rohouvsky 1970) Schwein (Saloniemi u. Rahko 1972, Hornich et al 1974) und Kalb (Landsverk 1980) festgestellt werden, daß die SP vorwiegend apikal orientiert ist. Dies gilt auch für Kryptepithelzellen. In den Paneth-Zellen fällt allerdings eine mehr basale Anordnung auf (Barka 1963), die bei Mensch und Affe besonders stark ist (Floch et al 1967). Einigkeit besteht darüber, daß die stärkste Anreicherung in den Lysosomen zu finden ist (Tonner 1968, Lojda 1971). Bei Nagern (Ogawa et al 1962, Hugon u. Borgers 1967, 1968a,b, Ono 1979), bei Ferkel (Hornich 1974) und Katze (Fowler u. Rohouvsky 1970) sowie beim Mensch (Fric u. Lojda 1964, Floch et al 1967, Hugon u. Borgers 1968b, Lojda et al 1970) wurde dies bestätigt. Auch quantitativ gelang der Nachweis in den Lysosomen (de Duve u. Wattiaux 1966). In ersten feinstrukturellen Untersuchungen sahen Sheldon u. Mitarbeiter (1955) sowie Barka (1963) keine Reaktion im Golgiapparat von Mäuseenterozyten. Zum gleichen Ergebnis kamen Lojda u. Mitarbeiter (1970) sowie Hugon u. Borgers (1969b) am menschlichen Darm. Allerdings fanden letztgenannte Autoren (1967, 1968a) bei kleinen Nagern sehr wohl SP in Golgi-Vesikeln. Auch Lojda (1971) bestätigt dies bei Mäusen, Ono (1979) bei Ratten. Darüberhinaus konnte die extralysosomale Fraktion der SP bei der Maus in heterogenen Körperchen distal des "terminal web" nachgewiesen werden (Barka 1964). In basalen "dense bodies", glattem endoplasmatischem Retikulum bei kleinen Nagern und Mensch (Barka 1964, Hugon u. Borgers 1967, 1968a,b, 1969) sowie in einem nach Novikoff (1964) GERL benannten Anteil des ER bei Ratten (Ono 1979) ließ sich ebenfalls SP dar-

stellen. Die erwähnten "dense bodies" sind strukturell identisch mit den AP enthaltenden Zellorganellen im apikalen Zytoplasma (Hugon u. Borgers 1966b).

Nach Ono (1979) sowie Ogawa u. Mitarbeitern (1962) reagierten auch Zellembranen positiv.

Der Zellkern ist nach Burt u. Mitarbeiter (1957) sowie Deane (1963) negativ.

2.3.1.1.2. Verteilung Krypte/Zotte

Über die Verteilung der SP entlang der einzelnen Zotte existieren unterschiedliche Berichte: Nordström u. Mitarbeiter (1969) finden bei säugenden und adulten Ratten eine gleichförmige Enzymverteilung, mit einer Ausnahme: im Ileum fällt beim Säugling der Enzymgehalt zur Krypte hin steil ab. Im menschlichen Dünndarm beschreiben Nordström u. Dahlquist (1973) ebenfalls keine Schwankungen. Sie sehen darin einen Unterschied zu den membranständigen Enzymen mit digestiver Funktion. Andere Autoren jedoch berichten beim Menschen (Spiro et al 1964, Floch et al 1967, Dawson u. Pryse-Davies 1970, Wachsmuth 1976), bei Maus (Barka 1963) und Kalb (Landsverk 1980) von einer Abnahme der SP von der Zottenspitze zur Krypte hin. Zindel (1980) beschreibt beim noch saugenden Kalb eine gleichmäßige Verteilung im vorderen Dünndarm, einen Anstieg zur Zottenspitze im Ileum. Er bestätigt damit die Ergebnisse von Nordström u. Mitarbeitern (1969).

In den Epithelzellen der "Ileal domes", den Zotten über Peyer'schen Platten, nimmt die SP von der Spitze, wo sie schwach positiv ist, zur Basis deutlich zu (Landsverk 1981 a,c).

Die Kryptepithelzellen sind beim Kalb (Landsverk 1980, Zindel 1980), Maus (Barka 1963) und Ratte (Rutenberg u.Selig-

mann 1955, Nordström et al 1969) positiv, bei Ferkeln negativ (Hornich et al 1974). Nach Wachsmuth (1976) sowie Floch u. Mitarbeiter (1967) gelingt der Nachweis auch beim Menschen. Dawson u. Pryse-Davies (1970) sehen nur im Duodenum und Ileum eine positive Reaktion. Spiro u. Mitarbeiter (1964) schließlich finden in den Kryptepithelzellen nur gelegentlich SP beim Menschen.

2.3.1.1.3. Verteilung im Dünndarm

Betrachtet man die unterschiedliche Enzymaktivität in den einzelnen Dünndarmabschnitten, so findet sich bei Mensch (Dawson u. Pryse-Davies 1970), Ratte (Rutenberg u. Seligmann 1955, Ono 1979), Katze (Fowler u. Rohouvsky 1970) und Kalb (Zindel 1980) eine deutliche Verringerung vom Duodenum zum Ileum.

Während aber Zindel den höchsten Gehalt im mittleren Jejunum beschreibt mit einem Abfall zum Ileum um 50%, weisen die Untersuchungen von Landsverk (1980) eine weitgehende Gleichmäßigkeit der SP auf. Gleichlautendes erwähnen Hornich u. Mitarbeiter (1974), ebenso wie Hsu u. Tappel (1965). Beim Kaninchen und Meerschweinchen fand Jervis (1963) in Übereinstimmung mit den Ergebnissen Zindels (1980) die höchste Aktivität in der Mitte des Jejunums.

2.3.1.2. Altersabhängigkeit der Enzymaktivität

Im Mäusefetus ist die SP bereits am 14. Tag der Gravidität, d.h. früher als die AP in "dense bodies" nachweisbar. Zur Zeit der Geburt wird sie bei Ferkel (Hornich et al 1974) und Ratte (Nordström et al 1969) beschrieben. Post partum

kommt es zu einem leichten Anstieg (Hornich et al 1974, Helander 1975). Die höchste Aktivität findet sich zur Zeit der Geburt im kaudalen Jejunum der Ferkel (Sprague et al 1963), während der Säugeperiode im Ileum (Nordström et al 1969, Brown u. Moon 1979).

2.3.2. Verhalten der SP bei Darmerkrankungen

Das Spektrum der Darmerkrankungen, bei denen die SP überprüft wurde, ist schmal. So wird über die Veränderungen im Verlauf von Kälberdurchfällen berichtet, wo es zu einem Abfall um bis zu 30% und zu einer Verschiebung der Aktivitätsspitze ins Duodenum kommt. Die Verteilung entlang der Zotte bleibt ausgeglichen (Zindel 1980). Bei spontan an Durchfall erkrankten Kälbern ist nach Landsverk (1981c) die SP am stärksten betroffen und nimmt bei der Mehrzahl der Tiere im Bürstensaum des Duodenums ab, während sie im Zytoplasma gleich bleibt. Genesende Kälber zeigen keine Unterschiede zu Kontrolltieren (Landsverk 1981c). In den Epithelzellen der "ileal domes" nimmt der Gehalt an SP beim Durchfall-Kalb nicht wie beim gesunden Tier von der Basis zur Spitze ab (Landsverk 1981c). Der Autor interpretiert dies als Ausdruck der verminderten Pinozytose beim kranken Kalb.

Bei unmittelbar post partum natürlich mit E.coli infizierten Ferkeln läßt sich gegen Ende der dritten Lebenswoche eine Enzymreduktion feststellen (Hornich et al 1974).

Im Zusammenhang mit verschiedenen Erkrankungen finden sich Berichte über eine Steigerung der Enzymaktivität in Enterozyten: so beschreibt der zuvor bei der AP bereits zitierte Michael (1974) auch eine Steigerung der SP. Bemerkenswert sei - so der Autor - das Auftreten in der Golgi-Zone, die

normalerweise negativ ist. Da die Golgistrukturen in engem Zusammenhang mit der Bildung der Lysosomen stehen, wertet er dies als Ausdruck der erhöhten Stoffwechselleistung und spricht von "hypergenerative cells". Das gleiche Phänomen berichtet Riecken (1971) beim an "einheimischer Sprue" (Glutenhypersensitivität)erkrankten Menschen. Daß die Anzahl der Lysosomen bei Infektionskrankheiten erhöht ist, zeigten schon Trier und Rubin (1965). Auch bei der intestinalen Lipodystrophie des Menschen (Whipple'sche Krankheit) kommt es zum Anstieg der sauren Phosphatase (Lojda et al 1970), ebenso nach Benzen-Intoxikation (Jonek et al 1972).

Nach Allison (1967) ist die Aktivierung verschiedenster lysosomaler Enzyme - unter anderem auch der SP - ein bedeutender Mechanismus im Ablauf der Virusinfektion von Zellen. Über eine Permeabilitätserhöhung kommt es nach einiger Zeit zur Diffusion von Enzym ins Zytoplasma,bis schließlich bei hochgradiger Zellschädigung kein Ferment mehr nachweisbar ist.

2.4. Funktionsweise im Darm

Die SP gilt als Gradmesser für den Stand des intrazellulären Katabolismus. Sie ist sowohl an Sekretion und Resorption als auch an Pinozytose und Phagozytose beteiligt (Jonek et al 1972). Eine besondere Funktion kommt ihr dabei offenbar bei der Aufnahme von Immunoglobulin in Phagolysosomen beim Neugeborenen zu (Brown u. Moon 1979).

3. Leucinaminopeptidase (LAP)

3.1. Geschichtliches

Ein weiteres membranständiges Enzym, die Leucinaminopeptidase (E.C.3.4.1.3) wurde von Euler u. Josephson (1926) erstmals isoliert. Sie nannten es "Darmerepsin". Der erste histochemische Nachweis gelang Gomori (1954). Eine wesentliche technische Verbesserung brachte die Verwendung von Naphtol substituierten Amiden (Burstone u. Folk 1956).

3.2. Allgemeines

3.2.1. Biochemie und Funktionsweise

Die Leucinaminopeptidase (LAP) ist eine Exopeptidase und spaltet Peptidketten vom N-terminalen Ende her (Buddecke 1980). Ihr pH-Optimum liegt bei 6,5. Sie besitzt eine relativ geringe Substratspezifität und hydrolysiert neben Leucin- auch Alanylleucin-, Lysin-, Arginin-, Glycylleucin und andere Verbindungen. Diese Reaktionen laufen in der Zellmembran und nicht im Zytoplasma ab (Rhodes et al 1967), wobei die LAP in einer löslichen und einer membrangebundenen Form vorliegt (Wachsmuth u. Donner 1976).

3.2.2. Vorkommen

Nach Berger u. Johnson (1940) ist die LAP im Pflanzen- und Tierreich weit verbreitet. Im Organismus von Säugetieren findet sie sich unter anderem in der Niere im

Mikrovillisaum der Pars contorta et recta der Tubuli der Hauptstücke, im viszeralen Blatt der Bowmanschen Kapsel (Wachsmuth 1968), diffus in Leberzellen (Nachlas et al 1957a), in den exokrinen Zellen des Pankreas, in roter Milzpulpa, Enterozyten des Dünndarms, Ausführungsgängen der Speicheldrüse, Lymphknoten, Zentralem Nervensystem und Makrophagen (Burstone u. Folk 1956) sowie Ovarien, Endometrium, Nebenniere (Nachlas et al 1957a). Dabei bestehen bei den verschiedenen Tierarten nicht nur Unterschiede in der Intensität, sondern auch in der zellulären Lokalisation (Nachlas et al 1957a).

3.3. Vorkommen im Darm

3.3.1. Verhalten im gesunden Darm

3.3.1.1. Lokalisation

3.3.1.1.1. Verteilung Dünndarm

Im Darm zeigt die LAP ihre Hauptaktivität bei Säugetieren im Ileum (Koldovsky 1969). Beim Kalb steigt ihr Gehalt vom Duodenum, wo er nur sehr gering (Zindel 1980) bzw. negativ (Landsverk 1980) ist, über das Jejunum kontinuierlich bis zum Ileum an und fällt zum Colon abrupt ab (Zindel 1980, Landsverk 1980). Für das Ferkel ließ sich diese Aktivitätskurve bestätigen (Hornich et al 1974). Im wesentlichen gilt dies auch für Maus (Moog et al 1971) und Ratte (Noack et al 1966), wobei die Spitze jedoch bereits im kaudalen Jejunum erreicht wird (Moog et al 1971). Vom Menschen berichten Dawson u. Pryse-Davies (1970) über eine gleichmäßige Verteilung entlang des Dünndarms.

3.3.1.1.2. Verteilung Zotte/Krypte

Entlang einer Zotte beschreiben Nordström u. Dahlquist (1973) in Übereinstimmung mit Dawson u. Pryse-Davies (1970) beim Menschen eine gleichbleibende Aktivität. Bei verschiedenen Tieren, darunter Kalb (Zindel 1980), Maus (Moog et al 1971) und Rindern (Grey u. Le Count 1970) wird von einer stärkeren Anordnung an der Zottenbasis und den Seitenflächen berichtet. In einer quantitativen Analyse fanden Nordström u. Mitarbeiter (1968) bei der Ratte die höchsten Werte in der oberen Zottenhälfte, nur die Zellen an der Spitze zeigten geringeren Gehalt.

Über das Auftreten der LAP in Kryptepithelzellen existieren die unterschiedlichsten Berichte: beim Kalb weisen diese Zellen nach Landsverk (1980) keine Aktivität auf, Zindel (1980) sieht eine schwach positive Reaktion. Beide Autoren gehen dabei von Tieren desselben Alters aus. Ähnlich verhält es sich beim Schwein: Hornich u. Mitarbeiter (1974) haben bei Saugferkeln in Übereinstimmung mit Saloniemi u. Rahko (1972), die adulte Tiere überprüften,keine LAP in Krypten nachweisen können, während Wachsmuth (1968) mittels Immunofluoreszenz zu einem positiven Ergebnis kam. Analoges gilt auch für den Menschen: Spiro u. Mitarbeiter (1964) ebenso wie Floch u. Mitarbeiter (1967) sehen keinen Niederschlag in den Krypten, Wachsmuth u. Donner (1976) sowie Nordström u. Dahlquist (1973) behaupten das Gegenteil. Beim Hund sind die meisten Krypten negativ (Nachlas et al 1957a). Die Ursache dieser unterschiedlichen Ergebnisse ist unklar. Zwar berichteten Moog u. Mitarbeiter (1971), daß eine Kryptaktivität bei der Maus erst nach einer Inkubationszeit von mehr als drei Minuten auftritt, jedoch ist eine kürzere Zeitspanne beim Nachweis der LAP auch nicht üblich (Pearse 1972). An eine unterschiedliche Reaktion verschiedener Individuen,

wie sie Dawson u. Pryse-Davies (1970) beim Menschen beschreiben, ist zu denken.

Das Oberflächenepithel der Pseudovilli reagiert nur schwach positiv und hebt sich so deutlich vom Epithel benachbarter Zotten ab (Landsverk 1981a).

3.3.1.1.3. Epithelzellen

Die zelluläre Verteilung der LAP ist bei weitem nicht so ausführlich untersucht wie z.B. die der AP. Daß die Leucinaminopeptidase bevorzugt im Mikrovillisaum und weniger stark in apikalem Zytoplasma vorkommt, konnten Nachlas u. Mitarbeiter (1960) mit Hilfe eines neuen Substrates (L-Leucyl-4-Methoxy-2-Naphthylamid) bei Ratte und Mensch als erste zeigen. Im apikalen Zellteil sind es vor allem die Lysosomen, die das Enzym enthalten (Hornich et al 1974). Holt u. Miller (1962) sowie etwas später auch Rhodes u. Mitarbeiter (1967) konnten die Ergebnisse von Nachlas u. Mitarbeitern (1960) quantifizieren: 75% der Gesamtaktivität sind im Bürstensaum lokalisiert. Robinson (1963) fand die LAP vor allem in der Fraktion der Mikrovilli. Nach und nach konnte die Membranständigkeit für Mensch (Spiro et al 1964, Lojda et al 1970) sowie Ratte (Friedrich et al 1965), Schwein (Wachsmuth 1968, Hornich et al 1974), Maus (Moog et al 1971) und Kalb (Landsverk 1980) bestätigt werden. Landsverk bemerkt jedoch einschränkend, daß die Mikrovilli im vorderen Dünndarmteil negativ sind.

Immunofluoreszenzmikroskopisch war die LAP allerdings nicht auf der freien Oberfläche nachweisbar (Wachsmuth 1968). Eine erste elektronenmikroskopische Darstellung der LAP im Nierengewebe erbrachte eine Anordnung im paranukleären

Zytoplasma und basalen Labyrinth der Tubulusepithelzellen (Mohr 1966).

3.3.1.2. Altersabhängigkeit

Während der letzten vier Tage der Gravidität stieg die LAP in den basalen Enterozyten der Maus stark an, fällt in den ersten zehn Tagen p.p. langsam ab und erreicht bis zum 16. Lebenstag das Verteilungsmuster adulter Tiere (Moog et al 1971). Bei Ratten ist sie bis zur 3. Lebenswoche nur in den Kryptepithelzellen nachweisbar. Im Laufe der vierten Woche breitet sich die Aktivität entlang der Zottenseiten zur Spitze hin aus. Um den 30. Lebenstag ist der Gehalt von Krypte und Zotte gleich hoch, danach nimmt die Kryptaktivität ab (Negrel u. Ailhaud 1973, Raul et al 1977). Beim Ferkel steigt die LAP kontinuierlich während der ontogenetischen Entwickung bis zum 20. Tag p.p. an (Hornich et al 1974).

3.3.2. Verhalten im kranken Darm

Obwohl bekannt ist, daß sich die Serum-LAP bei verschiedenen Erkrankungen wie z.B. intrahepatischer Cholestase, Cholangitis und akuten Pankreasaffektionen verändert (Schobel u. Wewelka 1962), finden sich wenig histochemische Untersuchungen über den krankhaft veränderten Magendarmtrakt. Zindel (1980) beobachtet bei natürlich infizierten, an Durchfall erkrankten Kälbern im kranialen Dünndarm einen Abfall um bis zu 50%, im Ileum um 20%. Dabei verringert sich vor allem der Enzymgehalt an der Zottenspitze. Bei ähnlichem Untersuchungsmaterial stellte Landsverk (1981b) bei einem Viertel der

erkrankten Kälber eine Reduktion der LAP im hinteren Jejunum fest. Im Verlauf einer E.coli-Infektion bei Ferkeln sahen Hornich u. Mitarbeiter (1974) eine Enzymreduzierung zwischen dem 10. und 20. Lebenstag.

Eine Aktivitätssteigerung nach Coccidieninfektion von Geflügel beschreibt Michael (1974): analog wie bei der AP läßt sich innerhalb 24 Stunden nach Manifestation der Erkrankung eine Erhöhung der Zellaktivität mit Auftreten der LAP in der Golgi-Zone erkennen. Riecken (1971) sagt in seiner zusammenfassenden Abhandlung über die "einheimische Sprue", daß er trotz deutlicher Mikrovilliverkürzung oftmals keinen Abfall der LAP registrieren konnte. Im Gegenteil, bei glutenfreier Nahrung konnte er eine Steigerung der Aktivität feststellen in dem Zeitraum bis das Epithel wieder vollständig intakt war.

3.4. Funktionsweise

Wie bereits angesprochen, ist die Leucinaminopeptidase ein wenig substratspezifisches, eiweißspaltendes Enzym. Es hydrolisiert neben Leucin-Verbindungen auch verschiedene andere Peptide und ist ein bedeutendes Endglied in der zellulären Proteinverdauung (Rhodes et al 1967). Dabei soll die LAP nicht nur Aminosäuren für die Resorption bereitstellen, sondern möglicherweise auch über die Spaltung von Peptiden eine Regulationsfunktion innehaben (Wachsmuth 1968).

4. ß-Galactosidase

4.1. Geschichtliches

Bereits 1633 hat Bartoletus die Laktose als einen spezifischen Bestandteil der Milch erkannt. 1907 entdeckten Mendel und Mitchell, daß die Spaltung der Laktose durch ein beim Säugling reichlich, beim Erwachsenen kaum oder gar nicht vorhandenes Ferment, die Laktase, erfolgt.

4.2. Allgemeines

4.2.1. Biochemie und Funktionsweise

Dieses zu den Disaccharidasen zählende Enzym (E.C.3.2.1.23) ist als ß-Galactosidgalactohydrolase anzusprechen. Es spaltet unter Wasseraufnahme Galactoside in Galactose und das zugehörige Aglykon. Neben der Laktoseverdauung dürfte seine Bedeutung im Abbau von Mukosubstanzen und Glykolipiden liegen (Lojda et al 1976, Buddecke 1980). Doell u. Kretchmer (1962) fanden bei Ratte, Kaninchen und Mensch zwei Enzymfraktionen: eine gebundene mit einem Optimum bei pH 6 sowie eine lösliche mit Optimum bei pH 4. Die gebundene Fraktion hat bei Ratte und Mensch eine größere Affinität zu Laktose als zu synthetischem Galactosid (o-nitrophenyl-ß-galactosid), die lösliche Fraktion hydrolisiert beide Substrate in gleicher Weise. Dies bestätigte die Vermutung Heilskovs (1951), daß die intestinalen Epithelzellen des Kalbes zwei ß-Galactosidasen enthalten. Asp u. Mitarbeiter (1968) sprechen von einer "neutralen" ß-Galactosidase, die bei schwach saurem pH-Wert im Rattendarm in vitro Laktose wesentlich schneller hydrolysiert als die "saure" Galactosidase (Asp et al 1968).

Außer dem Substrat 6-bromo-2-galactopyranosid spaltet die neutrale Fraktion keine Galactoside bei pH 3,5, während die saure alle angebotenen Substrate, einschließlich Laktose, hydrolisiert (Asp et al 1968, Asp u. Dahlquist 1968b).

Mittels Gelfiltration und Ionenaustauschchromatographie konnte das von Ratten gewonnene, saure Isoenzym in zwei Untereinheiten aufgeteilt werden, die beide eine größere Affinität zu ß-Galactosiden als zu Laktose aufwiesen (Asp et al 1968a).

Weiterführende biochemisch-analytische Arbeiten an Ratte und Mensch erbrachten für die zwei Isoenzyme unterschiedliche Werte von Molekulargewicht, Hitzestabilität und Lokalisation: eine neutrale ß-Galactosidase trat im Zytoplasma, eine saure in den Lysosomen auf (Kraml et al 1969, Asp et al 1971). Dies steht allerdings im Widerspruch zum Nachweis einer neutralen Fraktion in den Mikrovilli (Doell et al 1965, Koldovsky et al 1965, 1967, Alpers 1969, Eichholz 1969, Henning u. Kretchmer 1973).

Diese Unklarheit konnte durch den Nachweis von drei Isoenzymen im menschlichen Darm beseitigt werden: 1) eine neutrale Fraktion mit Optimum bei pH 6, die im Bürstensaum auftritt und die spezifische Laktase darstellt; 2) ein saures Isoenzym mit Optimum bei pH 4,5, das in den Lysosomen lokalisiert ist; 3) eine inaktive Form, Optimum bei pH 6, im Zytoplasma vorkommend (Gray u. Santiago 1969, Asp u. Dahlquist 1972).

Über die enzymatischen Reaktionen der Isoenzyme besteht noch nicht letzte Klarheit. Asp u. Mitarbeiter (1971) sowie Nordström u. Dahlquist (1973) glauben, daß nur die neutrale ß-Galactosidase Laktose spaltet. Die Funktion des sauren Isoenzyms könnte in der Hydrolyse von Glykosaminoglykanen und Glykolipiden liegen (Asp et al 1971).Lojda

(1976) dagegen stellt - wie auch Asp u. Dahlquist (1967, 1968b) - fest, daß saure und neutrale Galactosidase Laktose zu gleichen Teilen hydrolysieren.

Die Lokalisation der Galactosidase in den Mikrovilli konnte auch bei Ratte (Rutenberg et al 1958, Doell et al 1965, Nordström et al 1969, Lojda u. Kraml 1971), Affe, Hamster (Lojda u. Kraml 1971), Ferkel (Hornich et al 1974) und Kalb (Landsverk 1980) bestätigt werden. Das Vorkommen in den Lysosomen wird bisher nur bei Ratte (Lojda u. Kraml 1971, Henning u. Kretchmer 1973), Affe (Lojda u. Kraml 1971), Ferkel (Hornich et al 1974) und Mensch (Lojda u. Kraml 1971) berichtet.

4.2.2. Histochemische Besonderheiten

Die bisher erwähnten Bestimmungen wurden fast ausnahmslos quantitativ analytisch durchgeführt. 1952 wurde von Cohen und Mitarbeitern bereits die erste Azo-Färbemethode entwickelt. Rutenberg u. Mitarbeiter (1958) konnten die Methode verbessern, wenngleich aufgrund der geringen Enzymaktivität und der hemmenden Wirkung der Diazoniumsalze die ansonsten übliche gleichzeitige Kopplungstechnik nicht möglich war. Nach Lojda (1965) ist beim enzymhistochemischen Nachweis der neutralen ß-Galactosidase zu beachten, daß dieses Enzym die geringste Aktivität unter allen Disaccaridasen aufweist, im Intestinum noch schwächer als in der Niere ist, keine konstante Reaktion im Bürstensaum aufweist und nur unter anaeroben Bedingungen nachweisbar ist. Die saure ß-Galactosidase weist diese Einschränkungen nicht auf.

4.2.3. Vorkommen

Stark positive Reaktionen fanden sich in den proximalen und distalen Tubuli contorti sowie in der Henle'schen Schleife der Niere, im Leberparenchym und Kupfer'schen Sternzellen, in roter Milzpulpa, Mikrovilli und Zytoplasma der Enterozyten des Duodenums, exokrinen Zellen und Ausführungsgangsepithelien des Pankreas, respiratorischem Epithel der Bronchien und des Ösophagus, Nebenhoden, Endometrium und Schilddrüse. Herzmuskel, Myometrium und Lamina muscularis mucosae duodeni sowie Nervenplexus waren schwach positiv (Rutenberg et al 1958).

4.3. Vorkommen im Darm

4.3.1. Verhalten im gesunden Darm

4.3.1.1. Lokalisation

4.3.1.1.1. Epithelzelle

Die zelluläre Lokalisation der ß-Galactosidase am Darm wurde in Zusammenhang mit der biochemischen Differenzierung in drei Isoenzyme bereits ausführlich diskutiert.(s.o.)

4.3.1.1.2. Verteilung Zotte/Krypte

Die Verteilung entlang der Zotten zeigte sowohl biochemisch (Dahlquist u. Nordström 1966) als auch histochemisch (Lojda u. Kraml 1971) die stärkste Enzymaktivität bei Hamster und

Ratte an der Zottenspitze. Dasselbe gilt für Ferkel (Hornich et al 1974) und für Kälber im kaudalen Dünndarm (Landsverk 1980, Zindel 1980). Zindel bewertet die Spitzen am kranialen Dünndarm zwar schwächer positiv als die Zottenbasis, jedoch nicht negativ wie Landsverk (1980).

Die Kryptepithelzellen werden bei Ratten teils als negativ (Doell et al 1965, Dahlquist u. Nordström 1966), teils als positiv (Fortin-Magana et al 1970, Lojda u. Kraml 1971) beschrieben. Beim Ferkel sind sie nach Hornich u. Mitarbeitern (1974) negativ, beim Kalb nach Landsverk (1980) und Zindel (1980) positiv.

Untersuchungen über die Verteilung der einzelnen Isoenzyme existieren von Ratte (Nordström et al 1969) und Mensch (Nordström u. Dahlquist 1973): während die neutrale Fraktion fast nur in den Zotten und hier mit dem Maximum an der Spitze nachweisbar ist, ist die saure ß-Galactosidase über Zotte und Krypte gleichmäßig verteilt. Die inaktive Form zeigt ihre größte Aktivität an der Zottenbasis (Nordström u. Dahlquist 1973).

Landsverk (1981a) konnte in den Epithelzellen der Zotten über den Peyer'schen Platten keine ß-Galactosidase nachweisen.

4.3.1.1.3. Verteilung Dünndarm

Der Enzymgehalt entlang des Darms ist bei adulten Ratten im Gegensatz zu säugenden im Jejunum am höchsten (Doell u. Kretchmer 1962, Asp et al 1968, Lojda u. Kraml 1971). Dies gilt ebenso beim Schwein (Dahlquist 1961, Sprague

et al 1963). Beim Ferkel beobachten Hornich u. Mitarbeiter (1974) eine gleichmäßige Verteilung. Beim Kalb konnten Zindel (1980) und Landsverk (1980) in Übereinstimmung mit Toofanian u. Mitarbeitern (1974) sowie Halpin u. Caple (1976) die höchste Aktivität im Duodenum finden.

4.3.1.2. Altersabhangigkeit

Die ß-Galactosidase nimmt bei allen Säugetieren mit zunehmendem Alter ab (Kretchmer 1971). Zum Zeitpunkt der Geburt bestehen hohe Werte bei Ratte (Doell et al 1965), Ferkel (Sprague et al 1963) und Kalb (Toofanian et al 1974). In den ersten zehn Lebenstagen steigt der Enzymgehalt im Ileum der Ratte kontinuierlich an, zeigt um den 10. Tag höhere Werte als im Jejunum, wo er nach der Geburt bereits zu fallen beginnt (Koldovsky u. Chytil 1965, Asp et al 1968). Nordström u. Mitarbeiter (1969) vermuten,daß im Ileum der Säuglinge im Gegensatz zum Erwachsenen eine Zuckerresorption stattfindet. Auch Helander (1975), der im Colon von Ratten eine dreimal so hohe Aktivität wie im Jejunum fand, glaubt, daß der hohe Kalorienbedarf der Neugeborenen eine Mitbeteiligung beinahe aller Darmabschnitte an der Kohlehydratverdauung erfordert.

Die neutrale und saure ß-Galactosidase, die beide bei Säuglingen höhere Werte aufweisen als bei Adulten (Nordström et al 1969), unterscheiden sich beim Neugeborenen folgendermaßen: das neutrale Isoenzym ist in Jejunum und Ileum gleichmäßig verteilt, während die saure Fraktion offensichtlich für die insgesamt erhöhten Werte im Ileum verantwortlich ist. Nach Koldovsky u. Chytil (1965) erbringt der Nachweis bei pH 3,5 denn auch höhere Aktivitäten als bei pH 5,5.

4.3.2. Verhalten bei Darmerkrankungen

Über den beim Menschen beschriebenen Mangel an ß-Galactosidase und die daraus resultierende fehlende Laktose-Absorption (Holzel et al 1959) ist beim Tier wenig bekannt. Beim Ferkel wird nach natürlicher E.coli-Infektion eine Abnahme der Enzymaktivität ca. 10. Tag p.p. berichtet (Hornich et al 1974). Analoges berichtet Halpin u. Caple (1976) von bis zu drei Wochen alten, natürlich mit Rotaviren, E.coli und Salmonellen infizierten Kälbern. Dabei kam es zu einer gleichmäßigen Abnahme im gesamten Dünndarm. Nach Zindel (1980) bleibt die beim gesunden Kalb bereits angesprochene Aktivitätsspitze im kranialen Dünndarm auch beim kranken erhalten. So steigt vom Duodenum zum vorderen Jejunum der Gehalt etwas an, fällt jedoch zum Ileum hin steil ab. Bemerkenswert ist dabei der stark reduzierte Prozentsatz an Zottenspitzenaktivität.

In einer von Landsverk (1981b) untersuchten, spontan an Durchfall erkrankten Gruppe von zwölf Kälbern zeigten nur einige eine Abnahme der ß-Galactosidase in den Kryptepithelzellen und im Bürstensaum der Zottenepithelzellen des Duodenums.

B. Zytoplasmatische Enzyme

Succinatdehydrogenase (SDH)

1. Geschichtliches

Als ein Enzym, das aufs Engste mit dem Energiestoffwechsel der Zelle verknüpft ist, gilt die Succinatdehydrogenase (SDH). Thunberg entdeckte sie 1909 in der Muskulatur von Fröschen.

2. Allgemeines

2.1. Biochemie und Funktionsweise

Die Succinatdehydrogenase (E.C.1.3.99.1), ein Flavoprotein, ist eine strukturgebundene Oxidoreduktase und gehört zur Succinatoxidase, einem Komplex von hintereinandergeschalteten Enzymen in den Mitochondrien. Sie katalysiert die Oxidation des Succinats zu Fumarat und überträgt die Reaktionsäquivalente zur Atmungskette. Somit ist die SDH sowohl Teil des Zitratzyklus als auch der Atmungskette (Hanstein u. Davies 1971, Hederstedt u. Rutenberg 1981, Pearse 1972). Der histochemische Nachweis gibt Auskunft über den Funktionszustand dieser Zyklen (Lojda et al 1976).

2.2. Vorkommen

Die erste enzymhistochemische Methode entwickelten Seligmann u. Rutenberg (1951). Sie konnten die SDH in Ratten- und Mäusenieren, Leber und Herzzellen darstellen. In einem modifizierten Nachweis konnte Padykula (1952) ein weites Organspektrum bei der Ratte überprüfen: generell wies nur das Zytoplasma positive Reaktionen auf (Farber u. Mitarbeiter 1956). In der Niere zeigte sich eine deutliche Aktivität in allen Anteilen des Nephrons außer im Glomerulum, wobei besonders die proximalen Tubuli contorti und Sammelgänge hervorstachen (Padykula 1952). Insbesondere Leberparenchymzellen an der Läppchenperipherie waren stark positiv (Seligmann u. Rutenberg 1951). Von der quergestreiften Muskulatur war eindeutig der Herzmuskel am stärksten angefärbt, die glatte Muskulatur war nur schwach positiv.

Nur die Epithelzellen der Zotten des Dünn- und Dickdarms zeigten eine mäßige Reaktion im Zytoplasma. Mit Ausnahme der Lamina muscularis mucosae war das Gewebe der Darmwand negativ. Im zentralen Nervensystem war die SDH nur in der grauen Substanz nachweisbar (Padykula 1952).

Fettzellen färbten sich stark positiv, was als ein Hinweis auf die Diffusion von Endprodukten der Farbreaktion aus dem Zytoplasma angesehen wurde. Uterusepithel und Myometrium, Corpora lutea und Zona glomerulosa der Nebennierenrinde enthielten eine deutliche Enzymreaktion. In allen Anteilen des Pankreas, im Ösophagusepithel sowie in den Talgdrüsen der Haut war nur eine mäßige Reaktion zu beobachten (Rutenberg u. Seligmann 1951, Padykula 1952, Pearson u. Defendi 1954).

Aus dem beschriebenen Verteilungsmuster folgerte Padykula (1952), daß die SDH am stärksten in solchen Organen vertreten ist, die entweder eine hohe metabolische Leistung erbringen müssen, wie z.B. Muskulatur, oder in Organen mit resorptiver oder sekretorischer Aktivität, z.B. Leber und Niere.

3. Vorkommen im Darm

3.1. Verhalten im gesunden Darm

3.1.1. Lokalisation

Mit Hilfe eines neuen Substrats konnten Nachlas u. Mitarbeiter (1957b) bei Ratte und Hund die Ergebnisse Padykulas (1952) bestätigen und genauere Aussagen über die zelluläre Reaktion geben: Im Jejunum und Ileum ist das Epithel der

Zotten stärker positiv angefärbt als das der Krypten. Intrazellulär sind die Farbniederschläge basal und luminal gleich stark orientiert mit einer Aussparung im Kernbereich. Die Peyer'schen Platten sind schwach positiv. Darüberhinaus konnte SDH in Makrophagen nachgewiesen werden.

Bezüglich der Frage, ob die SDH im Zytoplasma basal oder luminal höher konzentriert ist, gehen die Angaben in der Literatur weit auseinander (Pearson 1958, Spiro et al 1964, Floch et al 1967, Fowler u. Rohouvsky 1970, Lojda et al 1970, Hornich et al 1974). Der erste enzymhistochemische Hinweis, daß die SDH in den Mitochondrien lokalisiert ist, findet sich bei Goddard u. Seligmann (1962). Dies konnte durch eine elektronenmikroskopische Untersuchung am Herzmuskel von Ratten erhärtet werden (Sedar et al 1962).

3.1.2. Verteilung Zotte/Krypte

Die Beobachtung von Nachlas und Mitarbeitern (1957b), daß die Zottenepithelzellen von Ratten mehr Enzymaktivität aufweisen als die in den Krypten, stimmt mit den Befunden bei Mensch (Spiro et al 1964, Lojda et al 1970, Lojda 1971), Schwein (Saloniemi u. Rahko 1972, Hornich et al 1974) und Kalb (Zindel 1980) überein. Nach Zindel und Hornich sowie Spiro und Mitarbeiter steigt auch der Enzymgehalt der Zellen auf einer Zotte zur Spitze hin an.

Im Gegensatz dazu stehen Berichte, wonach die Aktivität über Krypte und Zotte beim Mensch gleichmäßig verteilt ist (Floch et al 1967, Dawson u. Pryse-Davies 1970). Dies berichtet auch Landsverk (1980) für den kranialen Dünndarm des Kalbes, während ab mittleren Jejunum die Krypten weniger Aktivität aufweisen als die Zotten.

Die Reaktion in den Epithelzellen von Pseudovilli unterscheidet sich nicht von den übrigen Zotten (Landsverk 1981a).

3.1.3. Verteilung im Dünndarm

Hornich und Mitarbeiter (1974) sowie Zindel (1980) stimmen darin überein, daß der Enzymgehalt entlang des Dünndarms von kranial nach distal abnimmt: Landsverk (1980) dagegen beobachtet ebenso wie Fowler u. Rohouvsky (1970) bei der Katze und Dawson u. Pryse-Davies (1970) beim Menschen eine uniforme Verteilung entlang des Dünndarms.

3.2. Verhalten bei Darmerkrankungen

Bei Erkrankungen des Darms infolge E.coli-Infektion zeigt auch die SDH - wie alle bereits aufgeführten Enzyme - einen Aktivitätsverlust zwischen dem 10. und 20. Lebenstag der Ferkel (Hornich et al 1974). Beim Durchfall des natürlich infizierten Kalbes fällt die SDH um ca. 30% im Duodenum und kranialen Jejunum ab, während sie im distalen Dünndarm annähernd normale Werte zeigt. (Zindel 1980).

Die bereits mehrmals zitierte Arbeit über enzymatische Veränderungen in den Enterozyten von Geflügel nach Coccidieninfektion (Michael 1974), berichtet auch für die SDH einen Anstieg der Aktivität der einzelnen Zelle in der akuten Phase.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material und Methodik

a. Untersuchte Tiere

Zur Untersuchung gelangten siebzehn spezifisch pathogenfreie DFV-Kälber im Alter zwischen 20 und 96 Stunden, darunter zwei Kontrolltiere.

Die Kälber stammen von Kühen, die mehrere Tage vor dem errechneten Geburtstermin in die Gynäkologische Klinik der Tiermedizinischen Fakultät der Universität München gebracht wurden. Kurz ante partum wurden die Kälber durch Sectio caesarea entbunden* und in einen Isolierstall verbracht. Sie wurden ohne Kolostrumgabe aufgezogen und zweimal täglich mit konventionellem sterilisiertem Milchaustauscher (Biofix, Milchhof, München) ernährt.

Die Kälber wurden zu unterschiedlichen Zeiten oral infiziert. Es lassen sich folgende Gruppen zusammenfassen:

I. Kontrolltiere

Tier Nr.	Infektion	Diarrhoe	Alter
12	keine	keine	33 Std
42	keine	keine	72 Std

*Die sectio caesarea wurde dankenswerter Weise von Akad.Rat Dr. G. Schmidt, Gynäkologische Tierklinik, Vorstand Prof. Dr. M. Rüsse, durchgeführt.

II. Infektion mit Rota - Virus

Tier Nummer	Infektion	Zeitpunkt der Infektion Std p.p.	Diarrhoe*	Zeitpunkt der Diarrhoe Std p.p.	Zeitpunkt der Tötung Std p.p.
18	Rota-Virus	2	±	22	22
24	Rota-Virus	2	±	26	26
25	Rota-Virus	2	±	26	26
14	Rota-Virus	4	++	42	44
29	Rota-Virus	23	+	48	71
28	Rota-Virus	19	++	43	91
40	Rota-Virus	8	++	36	103

Bei der Auswertung der Infektionsversuche wurde unterschieden in Gruppe I, frühe Infektion, 2-4 Std p.p., Auftreten von Diarrhoe und Tötung 20-24 Std p. inf. und späte Infektion 8-23 Std p.p., Tötung 40-95 Std p. inf.

III. Infektion mit enterotoxischen E.coli (ETEC)

Tier Nummer	Infektion	Dosis	Zeitpunkt d. Infektion Std p.p.	Diarrhoe*	Zeitpunkt d. Eintritts d. Diarrhoe Std p.p.	Zeitpunkt d. d. Tötung Std p.p.
11	E.coli O101, $K99^+$,ST^+	10^{10}	12	+++	19,5	20
16	E.coli O101, $K99^+$,ST^+	10^7	14	-	-	24

±: schwach pastöser Kot
+: pastöser Kot
++: leichte Diarrhoe
+++: wäßrige Diarrhoe
++++: wäßrige Diarrhoe und Exsikkose

IV. Infektion mit Rota Virus und anschließend enterotoxischen E.coli (ETEC)

Tier Nummer	Infektion	Zeitpunkt d. Infektion Std p.p.	Diarrhoe*	Zeitpunkt d. d. Diarrhoe Std p.p.	Zeitpunkt d. Tötung Std p.p.
22	Rota-Virus	7			
	ETEC 10^7	19	++++	42	42
23	Rota-Virus	4			
	ETEC 10^7	18	++	49	50

V. Infektion mit enterotoxischen E.coli (ETEC) und anschließend Rota Virus

Tier Nummer	Infektion	Zeitpunkt d. Infektion Std p.p.	Diarrhoe*	Zeitpunkt d. d. Diarrhoe Std p.p.	Zeitpunkt d. Tötung Std p.p.
17	ETEC 10^7	16	±	92	92
	Rota-Virus	52			
27	ETEC 10^7	5			
	Rota-Virus	20	+	44	74

* ±: schwach pastöser Kot
+: pastöser Kot
++: leichte Diarrhoe
+++: wäßrige Diarrhoe
++++: wäßrige Diarrhoe und Exsikkose

VI. Mischinfektion: Rota Virus und enterotoxische E.coli (ETEC) gleichzeitig

Tier Nummer	Infektion	Zeitpunkt d. Infektion Std p.p.	Diarrhoe*	Zeitpunkt d. Diarrhoe Std p.p.	Zeitpunkt d. Tötung Std p.p.
26	ETEC 10^7				
	Rota-Virus	3	+++	19	27
36	ETEC 10^7				
	Rota-Virus	18	++++	24	49

* ±: schwach pastöser Kot
+: pastöser Kot
++: leichte Diarrhoe
+++: wäßrige Diarrhoe
++++: wäßrige Diarrhoe und Exsikkose

Weiterführende Angaben zur Infektion: R.G. Hess et al Veterinary Record 1983, im Druck.

Die Kälber wurden mindestens dreimal täglich untersucht, wobei besonderes Augenmerk auf die Konsistenz des Kotes gelegt wurde. Nach dem Auftreten von Diarrhoe wurden die Tiere zur Probeentnahme mit 1 ml Rompun^R (Bayer) und 2 - 4 ml Narcoren^R (IFFA MERIEUX GmbH) tief narkotisiert.

b. Histochemische Methodik

Für die histochemischen Untersuchungen wurden vier Dünndarmlokalisationen entnommen:
kraniales Jejunum (ca. 1 m hinter der Flexura duodenojejunalis), mittleres Jejunum (ca. 4 m hinter der Flexura duodenojejunalis), kaudales Jejunum (ca. 1,30 m kranial des Ostium ileocaecocolicum), Ileum (ca. 30 cm kranial des Ostium ileocaecolicum).

Die Darmteile wurden als ca. 0,5 cm lange Streifen in 99% Isopentan (Fa. ROTH) mit flüssigem Stickstoff tiefgefroren und bis zur Weiterverarbeitung in einer Tiefkühltruhe bei -70° C aufbewahrt.

Die enzymhistochemische Untersuchung erfolgte an ca. 8 µ dicken, bei -25° C angefertigten Kryostatschnitten. Von jedem Block wurden dreimal je zwei Schnitte auf Objektträger aufgebracht und bei Raumtemperatur luftgetrocknet. Zwei der Objektträger kamen in die mit Inkubationslösung gefüllten Küvetten um nach Anweisung inkubiert zu werden. Nach Abschluß der Reaktion wurden jeweils die Schnitte auf einem Objektträger zur Darstellung der Zellkerne in einer 1%igen Methylgrünlösung gegengefärbt. Der verbleibende dritte Objektträger kam zur Inkubation in eine Kontrolllösung, die kein Substrat enthielt, und abschließend ebenfalls zur Kernfärbung in eine Methylgrünlösung. Die gewässerten Schnitte wurden mit Kaiser's Glyceringelatine (Fa. Merck) eingedeckt und bis zur Auswertung dunkel und kühl gelagert. Bei jeder Reaktion wurden Objektträger mit je zwei Nierenschnitten als Kontrollorgan mitgeführt.

Die Anfertigung der Inkubationslösungen geschah nach folgenden Anleitungen:

1. Alkalische Phosphatase:
   Simultane Azokupplung modifiziert nach Burstone (1958)

Inkubationslösung:

50 ml 0,2 m Veronalpuffer pH 9,0
14 mg Naphthol-AS-BI-Phosphat (Fa. Sigma) lösen in
0,5 ml Dimethylformamid (Fa. Merck)
0,5 ml hexazotiertes Neufuchsin (Fa. Merck)
pH-Wert auf 9,0 einstellen
filtrieren,
Inkubation: 30 min bei Raumtemperatur
Spülen in Aqua bidest
Purpurrote Farbtöne zeigen die Enzymaktivität an

2. Saure Phosphatase:
   Simultane Azokupplungsmethode nach Barka und Anderson (1962)

Schnitte in 4% Formolcalcium 15 min fixieren
Inkubationslösung:

10 mg Naphthol-AS-BI-Phosphat (Fa. Sigma) lösen in
1 ml Dimethylformamid (Fa. Merck)
12 ml Aqua bidest
5 ml Veronalacetatpuffer pH 5,3
0,8 ml 4% Pararosanilin (Fa. Merck)
0,8 ml 4% Natriumnitrit
mischen und filtrieren
pH-Wert auf 5,0 einstellen
Inkubation: 60 min bei 37° C
mit Aqua bidest spülen
Rote Farbniederschläge zeigen die Enzymreaktion an

3. Leucinaminopeptidase:
   Simultane Azokupplung modifiziert nach Nachlas et al (1960)

Inkubationslösung:

5 mg L-Leucyl-4-methoxy-2-naphthylamid (Fa. Sigma)
0,5 ml N,N-Dimethylformamid
10 ml 0,1 m Acetat-Puffer pH 6,5
10 mg Fast Blue B (Fa. SERVA)
mischen und filtrieren
Inkubation: 45 min bei 37° C
Spülen in Aqua bidest
2 min in 2% $CuSO_4$-Lsg.
Spülen in Aqua bidest

Purpurrote Farbtöne zeigen die Enzymaktivität an

4. ß-Galactosidase:
   Methode nach Rutenberg et al (1958)

Inkubationslösung:

10 mg 6-Brom-2-naphthyl-ß-D-Galactopyranosid (= Galactosid) (Fa. Sigma)
1,5 ml Methanol zur Lösung
20 ml heißes Aqua bidest hinzufügen
8,5 ml 0,1 m Phosphat-Citrat-Puffer pH 3,9
Inkubation: 16 Stunden bei 25° C
Färbereaktion:
0,1% FastBlue B-Lösung pH 7,7 30 min
mit kaltem Leitungswasser spülen

Violette Farbniederschläge zeigen die Enzymreaktion an

5. Succinat-Dehydrogenase:
nach Pearse (1972)

Substratstammlösung:

6,75 g Di-Natrium-Succinat (Fa. SERVA)
8 ml Aqua bidest
0,05 ml 1 n HCL
auf 10 ml Aqua bidest auffüllen
auf pH 7,0 einstellen

Inkubationslösung:

2,5 ml 0,4% Nitro-BT (Fa. Sigma)
2,5 ml 0,2 m Tris-HCL-Puffer pH 7,4
1,0 ml 5mM Magnesiumchlorid-Lösung
3,0 ml Aqua bidest
auf pH 7,1 einstellen

Inkubationsmedium:

9 ml Inkubationsstammlösung
1 ml Substratstammlösung

Inkubationszeit: 60 min bei 37° C

Violette Formazanniederschläge zeigen die Enzymreaktion an

Die Auswertung der Schnitte erfolgte nach einem in der Histochemie allgemein üblichen Modus (Landsverk 1981b, 1980, Zindel 1980, Dawson u. Pryse-Davies 1970, Fowler u. Rohouvsky 1970, Floch et al 1967) der Klassifizierung in fünf Grade: 0 = negativ, (+) = schwach positiv, + = geringgradig positiv, ++ = mittelgradig positiv, +++ = stark positiv. Bewertet wurde jeweils die Krypte, die untere Zottenhälfte mit besonderer Berücksichtigung des Übergang von Krypte zur Zotte und die obere Zottenhälfte mit Zottenspitze.

Anschließend wurde durchschnittlich an zehn Zotten eines Blocks die Strecke der höchsten Aktivität einer jeden Zotte sowie die gesamte Schleimhautstrecke der Zotte über einen Morphomat 10 (Fa. ZEISS) gemessen und aufsummiert. Daraus wurde das Verhältnis der Strecke der höchsten Aktivität zur gesamten Zottenlänge bzw.zum Zottenanteil mit geringer Aktivität bestimmt.

Um unterschiedliche Strecken verschiedener Aktivitätsstufen untereinander vergleichen und in Beziehung setzen zu können, wurde die Dimension der Gesamtenzymaktivität EA = Enzymaktivität in Grad (0, (+) ≙ 5, + ≙ 10, ++ ≙ 20, +++ ≙ 30) x gemessene Darmschleimhautlänge (mm) eingeführt.

B. ERGEBNISSE

I. Kontrolltiere

1. Alkalische Phosphatase (Tab. 1, Abb. 1a)

Die Enzymaktivität der Alkalischen Phosphatase (AP) weist nahezu gleichbleibende Werte in den längs des Darms untersuchten Lokalisationen auf. Eine Ausnahme stellt das mittlere Jejunum und Ileum bei Tier Nr. 42 dar, bei dem hier die Gesamtaktivität außerordentlich hoch ist. Zum distalen Dünndarm hin zeichnet sich ein deutlicher Aktivitätsverlust ab. Im Jejunum ist die Aktivität entlang der Villi annähernd gleichbleibend, während im Ileum nur mehr die Zottenspitze positiv ist.

Die Epithelzellen der Krypten ebenso wie die der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten sind negativ.

Innerhalb der Enterozyten ist die AP auf das apikale Zytoplasma beschränkt. Auf der luminalen Oberfläche erkennt man einen deutlich abgesetzten streifenförmigen Bereich der Enzymaktivität.

2. Saure Phosphatase (Tab. 1, Abb. 1b)

Nahezu gleiche Verhältnisse trifft man bei der Sauren Phosphatase (SP) an. Auch hier ist die Enzymverteilung längs des Darms in den jeweils untersuchten Stellen - abgesehen von individuellen Schwankungen - nahezu gleich hoch. Eine Ausnahme bildet auch hier das Tier Nr. 42, bei dem im Ileum eine sehr hohe Gesamtenzymaktivität erreicht wird.

Abb. 1a

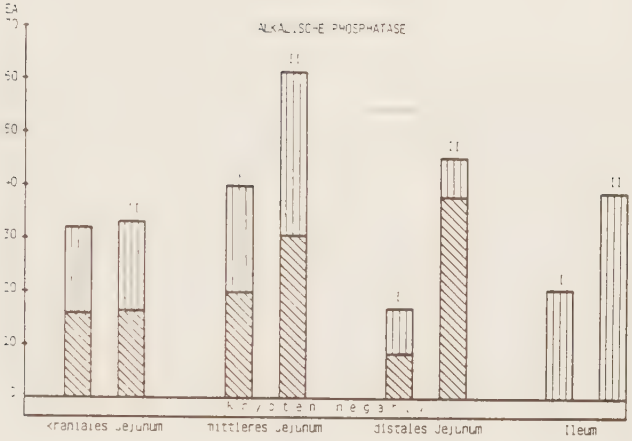

Abb. 1b

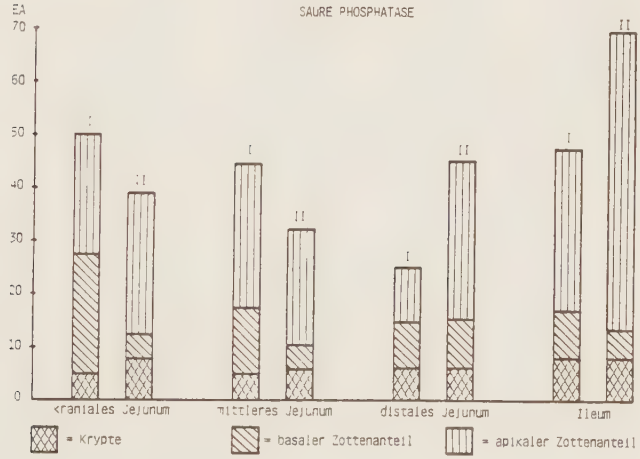

Abb. 1 Kontrolltiere

a: Alkalische Phosphatase

b: Saure Phosphatase

I: Kalb Nr. 12

II: Kalb Nr. 42

Im allgemeinen ist die Aktivität im apikalen Zottenanteil höher als im basalen. Den weitaus geringsten Enzymgehalt weisen die Krypten auf, die nur geringgradig positiv reagieren.

Innerhalb des Enterozyten ist die SP nur im supranucleären Zytoplasma zu finden. Auf der luminalen Oberfläche ist häufig ein scharf konturierter Streifen erkennbar. Das Epithel der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten ist an der Basis geringgradig positiv, zur Spitze hin tritt eine leichte Abnahme der Enzymaktivität auf.

3. Leucinaminopeptidase (Tab. 1, Abb. 2)

Vom kranialen Jejunum, wo die Enzymaktivität 20,4 Einheiten beträgt, steigt die Leucinaminopeptidase (LAP) kontinuierlich an und erreicht im Ileum ihr Maximum mit einer Gesamtaktivität von 63,7 Einheiten im Mittel. Dabei tritt die höchste Aktivität an der Zottenbasis auf und fällt bereits im mittleren Zottendrittel wieder ab.

Die Kryptepithelzellen waren bei einem Tier schwach positiv, während sie sich beim zweiten Kontrolltier nicht anfärbten.

Eine schwach positive Reaktion zeigten auch die Epithelzellen der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten.

Im Enterozyt ist die LAP bevorzugt supranucleär lokalisiert, während basal nur ein dezenter Saum zu erkennen ist. Die weitaus intensivste Anfärbung findet sich aber im Bereich des Bürstensaums.

Abb. 2

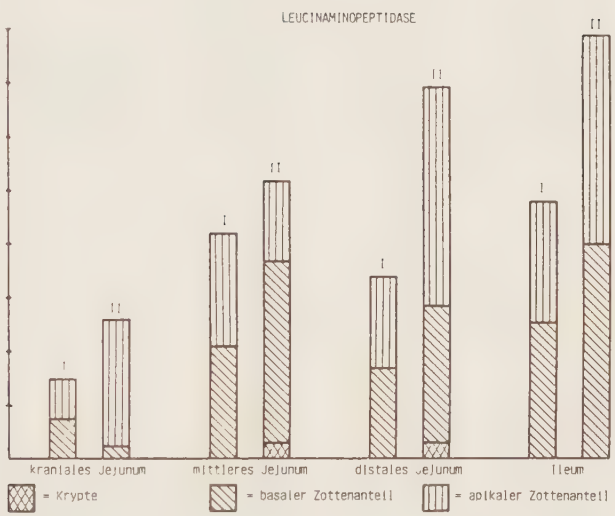

Abb. 2 Kontrolltiere
Leucinaminopeptidase

I.: Kalb Nr. 12
II.: Kalb Nr. 42

4. ß-Galactosidase (Tab. 1, Abb. 3a)

Die ß-Galactosidase ist annähernd gleichmäßig über die untersuchten Dünndarmabschnitte verteilt. Die durchschnittliche Enzymaktivität der einzelnen Epithelzellen fällt zum Ileum hin ab.

Entlang der Villi treten keine Schwankungen auf.

Die Kryptepithelzellen sind schwach bis geringgradig positiv.

Die Epithelzellen der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten zeigen eine mittelgradige Aktivität, wobei im Gegensatz zu den übrigen Darmzotten, die auch einen deutlichen infranucleären Saum aufweisen, die ß-Galactosidase in Enterozyten der Pseudovilli nur im apikalen Zytoplasma zu finden ist.

5. Succinatdehydrogenase (Tab. 1, Abb. 3b)

Die Succinatdehydrogenase ist bei beiden Kontrolltieren in allen untersuchten Lokalisationen mittelgradig positiv. Auch entlang der einzelnen Zotte findet man eine gleichmäßige Verteilung. Im kranialen Jejunum ergibt sich ein etwas geringerer Wert der Enzymaktivität.

Die Kryptepithelzellen sind durchwegs geringgradig positiv.

Mittelgradige Aktivität findet sich in den Enterozyten über den Peyer'schen Platten.

Im Zytoplasma findet sich die höchste Dichte basal, apikal ist die Aktivität stets etwas geringer. Bei den Pseudovilli ist jedoch nur das supranucleäre Zytoplasma positiv.

Abb. 3a

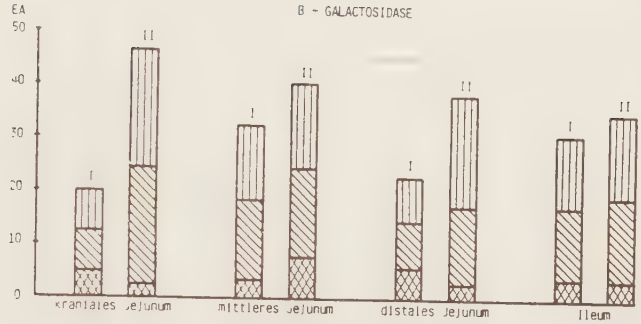

Abb. 3b

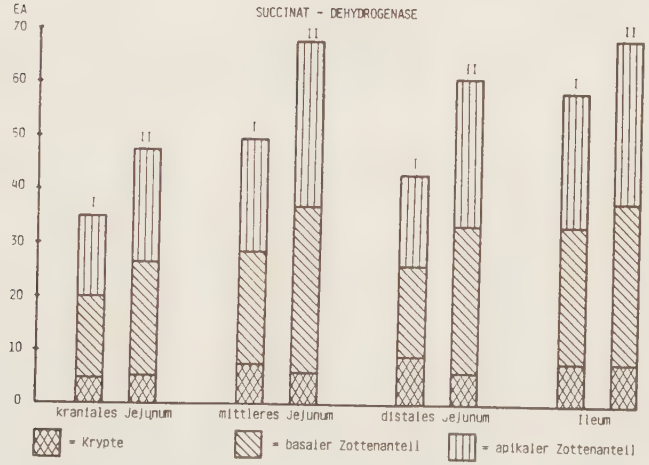

Abb. 3 Kontrolltiere

a: ß-Galactosidase

b: Succinat-Dehydrogenase

I: Kalb Nr. 12

II: Kalb Nr. 42

II. Infektion mit Rota Virus

1. Alkalische Phosphatase (Tab. 2 u. 3, Abb. 4a)

Die Tiere der Gruppe I (frühe Infektionen) zeigen einen ausgeprägten Anstieg der Emzymaktivität im kranialen Jejunum um 24,6 Einheiten. Ab mittlerem Jejunum findet sich bei beiden Infektionsgruppen (früh und spät) eine deutliche Verminderung der Enzymaktivität, die zum Ileum hin stärker wird. Bei den Tieren der Gruppe II sind ab distalem Jejunum nur mehr die Zottenspitzen geringgradig positiv.

Die Verteilung entlang der Zotte bleibt bei Gruppe I gleichmäßig, während die AP bei den Kontrolltieren im Ileum auf die Zottenspitzen beschränkt bleibt. Bei Tieren der Gruppe II wird im vorderen Dünndarm die Aktivität im basalen Zottenanteil deutlich stärker, während vom distalen Jejunum nur mehr der durch die Zottenatrophie verbliebene Zottenanteil positiv reagiert.

Die Epithelzellen der Pseudovilli sind in der Mehrzahl der Fälle geringgradig positiv.

2. Saure Phosphatase (Tab. 2 u. 3, Abb. 4b)

Die Tiere der Infektionsgruppe I weisen einen durchgehenden leichten Anstieg der Gesamtenzymaktivität gegenüber den Kontrollkälbern auf. Analoge Ergebnisse finden sich bei Gruppe II mit Ausnahme des Ileums, wo es zu einem deutlichen Abfall um 21,8 Einheiten gegenüber der Kontrolle kommt.

Die Aktivität der Sauren Phosphatase entlang der einzelnen Villi ist im Gegensatz zu den Kontrolltieren, wo der Enzymgehalt zur Spitze hin zunimmt, bei Gruppe I über die Zotte

Abb. 4a

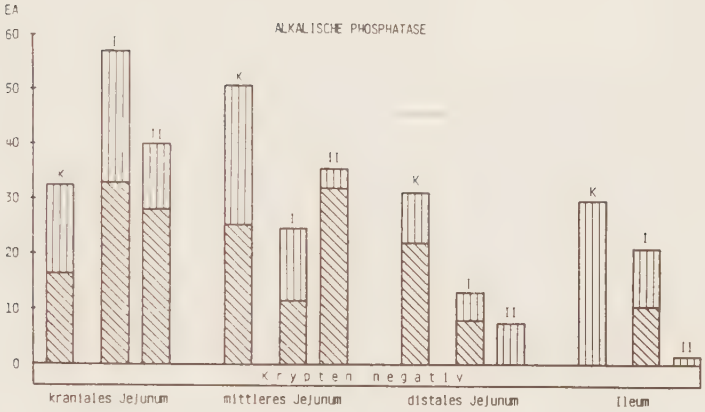

Abb. 4b

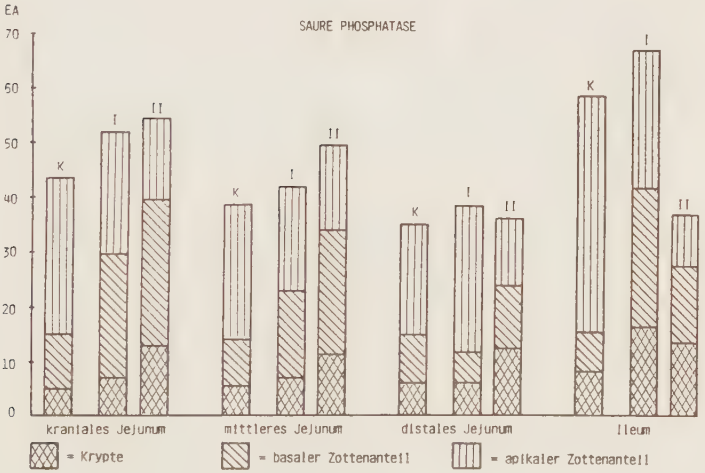

Abb. 4 Infektion mit Rota Virus
a: Alkalische Phosphatase
b: Saure Phosphatase

K: Kontrolle
I: Tötung 20-24 h p. inf.
II: Tötung 40-95 h p. inf.

gleichmäßig verteilt. Bei Gruppe II tritt sogar eine leichte Verschiebung hin zur Zottenbasis auf.

Auffallend ist die insbesondere bei den Tieren der Gruppe II deutlich erhöhte Aktivität in den Kryptepithelzellen (zwischen 5,4 und 8,0 Einheiten), die auch nach einer Reduktion der Gesamtaktivität im Ileum noch erhalten ist.

Die Enterozyten der Pseudovilli sind geringgradig positiv, wobei ein leichter Abfall zur Spitze zu sehen ist.

3. Leucinaminopeptidase (Tab. 2 u. 3, Abb. 5)

Abgesehen von einem Anstieg der Enzymaktivität bei Gruppe I im kranialen Jejunum um 12,5 Einheiten, fällt die Leucinaminopeptidase (LAP) gegenüber den Kontrollwerten deutlich ab. Die Abnahme des Enzymsubstratprodukts zum Ileum hin ist so ausgeprägt, daß der bei den Kontrolltieren gesehene Anstieg der Leucinaminopeptidase nach kaudal bei Gruppe II gänzlich ausbleibt. Bei Tieren der Gruppe I ist er im Ileum angedeutet.

Bemerkenswert ist der Anstieg der Aktivität im basalen Zottenanteil bei Gruppe II. Bei Kälbern der Gruppe I ist die Intensität entlang der Villi weitgehend gleichbleibend.

Mit Ausnahme eines Tieres reagieren die Kryptepithelzellen bei allen infizierten Kälbern schwach bis geringgradig positiv.

Entlang der Pseudovilli ist die Enzymaktivität bei länger infizierten Tieren etwas höher als bei Gruppe I, wo sie der Kontrolle entspricht.

Abb. 5

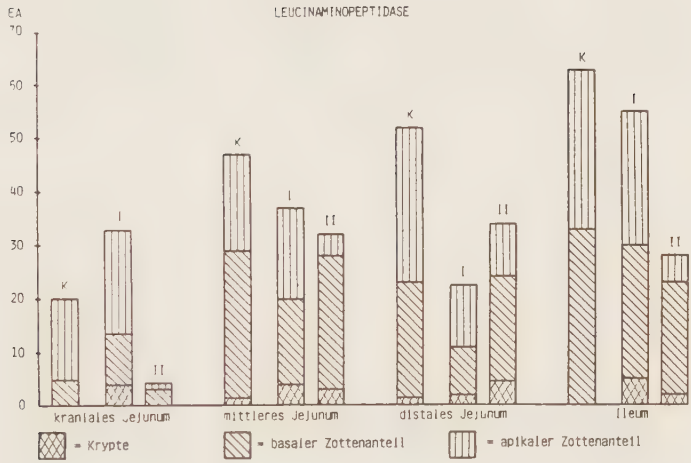

Abb. 5 Infektion mit Rota Virus
Leucinaminopeptidase

K: Kontrolle
I: Tötung 20-24 h p. inf.
II: Tötung 40-95 h p. inf.

4. ß-Galactosidase (Tab. 2 u. 3, Abb. 6a)

Die Gesamtaktivität der ß-Galactosidase im kranialen und mittleren Jejunum entspricht weitgehend der der Kontrolltiere. Ausnahmen bilden dabei die Werte von Gruppe I im mittleren Jejunum. Ab dem distalen Jejunum zeigt sich ein deutlicher Abfall bei sämtlichen Tieren mit Ausnahme der Werte des Ileums von Gruppe I, die den Kontrollwerten gleichen.

Die Verteilung entlang der Villi zeigt ebensowenig eine Abweichung von den Kontrollwerten wie der Gehalt der Kryptepithelzellen.

Das Epithel der Pseudovilli ist ähnlich den Kontrollwerten mittelgradig positiv.

5. Succinatdehydrogenase (Tab. 2 u. 3, Abb. 6b)

Diese Dehydrogenase (SDH) weist ebenso wie die Phosphatasen und die Leucinaminopeptidase eine Steigerung der Enzymaktivität im kranialen Jejunum auf. Bei den frühzeitig nach der Infektion getöteten Kälbern liegt die Gesamtaktivität um 18,2 Einheiten über der des Kontrollwertes. Ab mittlerem Jejunum ist bei Gruppe I ein ausgeprägter Abfall der Aktivität zu registrieren, der bei Gruppe II bereits im kranialen Jejunum auftritt.

Das Verhältnis von basalem zu apikalem Zottenanteil ist wie bei den Kontrolltieren weitgehend ausgeglichen.

Die Kryptepithelzellen reagieren gering - bis mittelgradig positiv und liegen somit etwas über den Kontrollwerten.

Entlang der Pseudovilli sind die Enterozyten schwächer angefärbt als die Kontrollen.

Abb. 6a

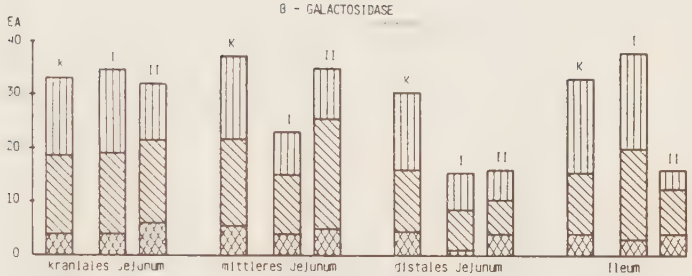

Abb. 6b

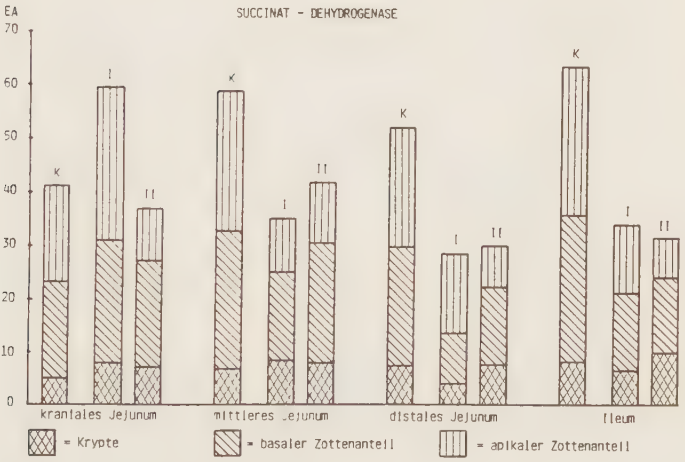

Abb. 6 Infektion mit Rota Virus
a: ß-Galactosidase
b: Succinat-Dehydrogenase

K: Kontrolle
I: Tötung 20-24 h p. inf.
II: Tötung 40-95 h p. inf.

III. Infektion mit Escherichia coli

Da beide Kälber mit unterschiedlichen Keimzahlen (10^7 bzw. 10^{10}) infiziert wurden, wird auf Unterschiede zwischen beiden Tieren hingewiesen.

1. Alkalische Phosphatase (Tab. 4 u. 5, Abb. 7a)

Bei der Infektion mit E.coli zeigt sich im kranialen Jejunum keine wesentliche Abweichung von den Kontrolltieren. Im mittleren und distalen Jejunum ist die Alkalische Phosphatase jedoch gegenüber dem Kontrollwert hochgradig vermindert (höchste Abweichung 45,0 Einheiten).

Auffallend ist, daß abgesehen vom völligen Fehlen von Reaktionsprodukt im distalen Jejunum die Infektion mit der höheren Dosis von 10^{10} gegenüber einer Dosis von 10^7 histochemisch weitgehend vergleichbare Befunde erbrachte.

Die Kryptepithelien färben sich nicht an.

Die Pseudovilli der Peyer'schen Platten weisen keine Unterschiede zu den Kontrollen auf.

Das Ileum konnte bei beiden mit E.coli infizierten Tieren aus technischen Gründen nicht ausgewertet werden.

2. Saure Phosphatase (Tab. 4 u. 5, Abb. 7b)

Beide Versuchstiere lassen eine deutliche Abnahme der Sauren Phosphatase in allen untersuchten Darmlokalisationen erkennen. Bei dem Tier, das mit der höheren Dosis infiziert wurde und erkrankte, weisen die Zottenepithelzellen höhere Enzymwerte

Abb. 7a

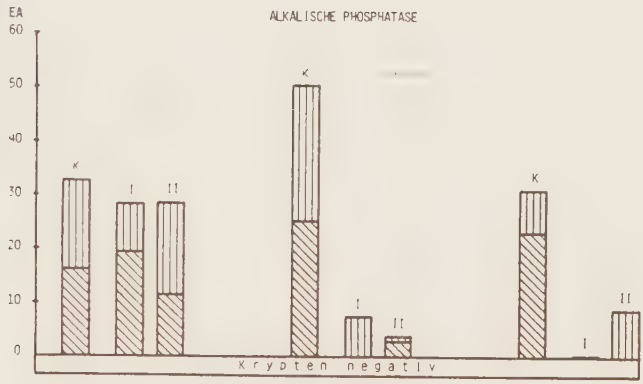

Abb. 7b

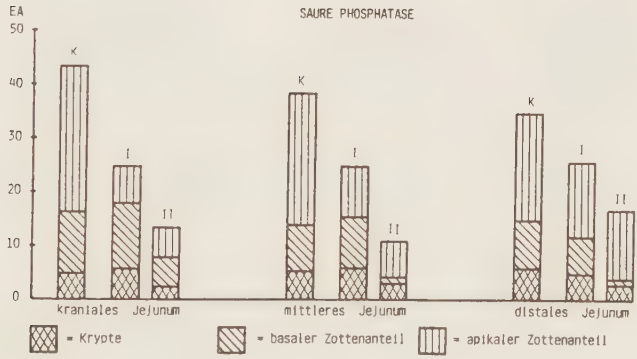

Abb. 7 Infektion mit E.coli
a: Alkalische Phosphatase
b: Saure Phosphatase

K: Kontrolle
I: Kalb Nr. 11, Dosis 10^{10}
II: Kalb Nr. 16, Dosis 10^{7}

auf als bei dem Tier, das eine Dosis von 10^7 Keimen erhielt. Über den gesamten Darm gesehen, bleibt die Aktivität bei den einzelnen Dosierungen weitgehend gleich.

Die bei Kontrolltieren gesehene Zunahme der SP zur Zottenspitze hin, kann bei mit E.coli infizierten Kälbern nicht bestätigt werden.

Die Kryptepithelzellen reagieren schwach bis geringgradig positiv und weisen somit keine Abweichungen von den Kontrollwerten auf.

Das Epithel der Pseudovilli verhält sich wie bei den Kontrollen.

3. Leucinaminopeptidase (Tab. 4 u. 5, Abb. 8)

Anders als die bisher besprochenen Phosphatasen erreicht die LAP bei mit E.coli infizierten Tieren im kranialen Jejunum höhere Werte als die Kontrollkälber. Im mittleren und distalen Jejunum tritt jedoch wiederum ein deutlicher Abfall der Enzymaktivität auf.

Eine höhere Intensität der LAP an der Zottenbasis als bei den Kontrolltieren zeigt sich bei dieser Infektionsgruppe nicht.

Die Aktivität der Kryptepithelzellen ist schwach positiv und entspricht in etwa den Normwerten.

Die Enzymaktivitäten der Pseudovilli weichen nicht von den Kontrollen ab.

4. ß-Galactosidase (Tab. 4 u. 5, Abb. 9a)

Ganz ähnlich der LAP findet sich auch bei diesem Enzym ein Anstieg der Aktivität im kranialen Jejunum bei dem mit 10^7

Abb. 8

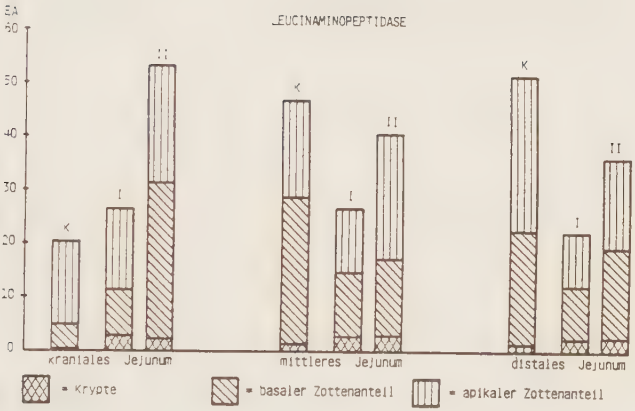

Abb. 8 Infektion mit E.coli
Leucinaminopeptidase

K: Kontrolle
I: Kalb Nr. 11, Dosis 10^{10}
II: Kalb Nr. 16, Dosis 10^{7}

E.coli infizierten Kalb. Ebenso analog erfolgt die Abnahme im mittleren und distalen Jejunum.

Wie bei gesunden Kälbern so zeigt auch diese Infektionsgruppe eine gleichmäßige Verteilung der Enzymaktivität entlang der Villi.

Auch die schwach bis geringgradig positiven Kryptepithelzellen entsprechen den Kontrollwerten.

Die Enterozyten der Pseudovilli weisen gegenüber der Kontrolle keine Veränderung auf.

5. Succinatdehydrogenase (Tab. 4 u. 5, Abb. 9b)

Das Verteilungsmuster der SDH entspricht dem der beiden letzten genannten Enzyme. Auch hier ist bei dem Tier mit einer Dosis von 10^7 E.coli im kranialen Jejunum eine Enzymaktivierung zumindest angedeutet. Im mittleren Jejunum ist die SDH um bis zu 37,7, im distalen um bis zu 41,9 Einheiten gegenüber dem Kontrollwert vermindert.

Die gleichmäßige Verteilung der SDH entlang der Zotten, wie sie sich bei den Kontrollkälbern findet, gilt für diese Infektionsgruppe nur im kranialen Jejunum. Vor allem im distalen Jejunum wird die Verschiebung der Aktivität zugunsten des basalen Zottenanteils deutlich.

Die Kryptepithelzellaktivität nimmt vom kranialen Jejunum, wo sie geringgradig positiv ist, zum distalen Jejunum hin leicht ab. Dieser Abfall tritt bei der Kontrollgruppe nicht auf.

Wie bei allen bisher besprochenen Enzymen dieser Infektionsgruppe entspricht die Enzymaktivität der Pseudovilli auch bei der SDH der Kontrolle.

Abb. 9a

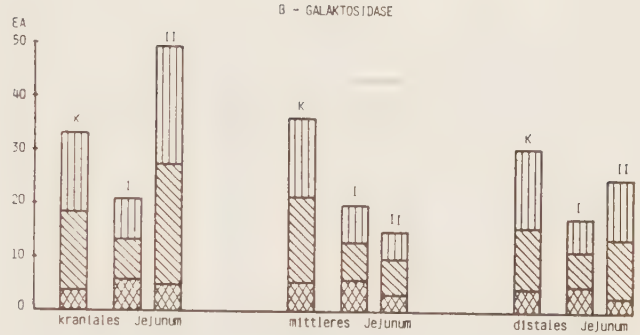

Abb. 9b

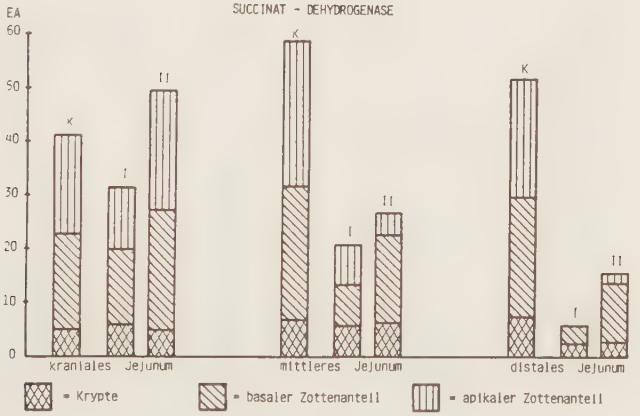

Abb. 9 Infektion mit E.coli
a: ß-Galactosidase
b: Succinat-Dehydrogenase

K: Kontrolle
I: Kalb Nr. 11, Dosis 10^{10}
II: Kalb Nr. 16, Dosis 10^{7}

IV. Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli

Da beide untersuchten Kälber übereinstimmende Enzymwerte zeigten, werden sie gemeinsam abgehandelt.

1. Alkalische Phosphatase (Tab. 6, Abb. 10a)

Die Gesamtaktivität der Alkalischen Phosphatase ist gegenüber den Kontrolltieren durchgehend vermindert. Zum einen beruht dies auf einer reduzierten Enzymaktivität in Enterozyten - so färbt sich z.B. bei einem Kalb die AP ab mittlerem Jejunum nicht mehr an - zum anderen liegt dies auch in einer geringeren Zottenlänge begründet. Es nimmt z.B. der Zottenumfang gegenüber den Kontrolltieren um bis zu 80% ab.

Die Verteilung entlang der Villi ist uneinheitlich.

Die Krypten weisen keine Reaktionsprodukte auf.

Pseudovilli über den Peyer'schen Platten verhalten sich wie bei der Infektion mit Rota Virus alleine, d.h. die Aktivität der AP ist höher als bei den Kontrollen.

2. Saure Phosphatase (Tab. 6, Abb. 10b)

Ähnlich wie bei der Alkalischen ist auch bei der Sauren Phosphatase in allen untersuchten Lokalisationen ein ausgeprägter Abfall zu registrieren. Die Durchschnittswerte der Gesamtaktivität EA der infizierten Kälber liegen zwischen 22,5 und 44,9 Einheiten unter denen der Kontrolltiere. Die Gründe der Abnahme sind ebenso wie bei der AP in Aktivitätsverminderung wie auch in Zottenatrophie zu suchen.

Abb. 10a

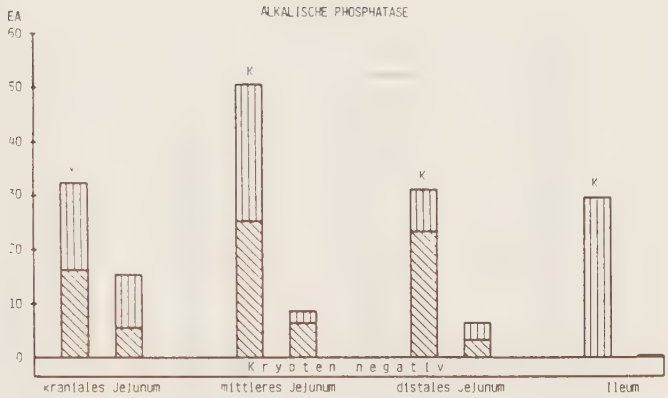

Abb. 10b

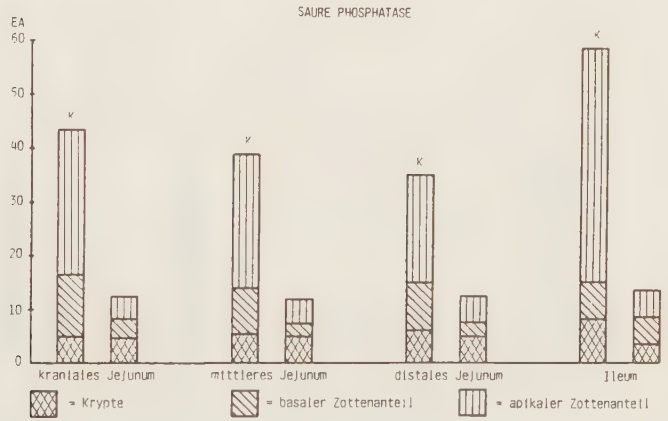

Abb. 10 Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli

a: Alkalische Phosphatase

b: Saure Phosphatase

K: Kontrolle

Die Enzymaktivität der Kryptepithelzellen eines Tieres (geringgradig positiv) entspricht in etwa dem der Kontrolltiere. Das andere Tier, bei dem es insgesamt zu einer stärkeren Verminderung der Enzymaktivität kam, hat auch eine geringere Kryptaktivität.

Die Enterozyten der Pseudovilli verhalten sich weitgehend wie die der Kontrollen, ein Gradient zwischen Spitze und Basis existiert jedoch nicht.

3. Leucinaminopeptidase (Tab. 6, Abb. 11a)

Die LAP ist wie die Phosphatasen bei der Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli in allen untersuchten Darmabschnitten vermindert. Die Abweichungen vom Kontrollwert betragen bis zu 41,2 Einheiten.

Bei der Verteilung entlang der Villi ist keine stärkere Aktivität an der Zottenbasis zu erkennen.

Die Kryptepithelzellen reagieren bei einem Tier im mittleren und distalen Jejunum positiv, während sie beim zweiten Tier durchgehend negativ sind.

Die Aktivität der Pseudovilli unterscheidet sich nicht von den Kontrollwerten.

4. ß-Galactosidase (Tab. 6, Abb. 11b)

Auch die ß-Galactosidase ist im gesamten untersuchten Bereich gegenüber den Kontrollwerten deutlich abgefallen. Sie weist bei einem früh getöteten Tier analog zur SP und teilweise auch zur LAP noch erheblich niedrigere Werte auf.

Abb. 11a

Abb. 11b

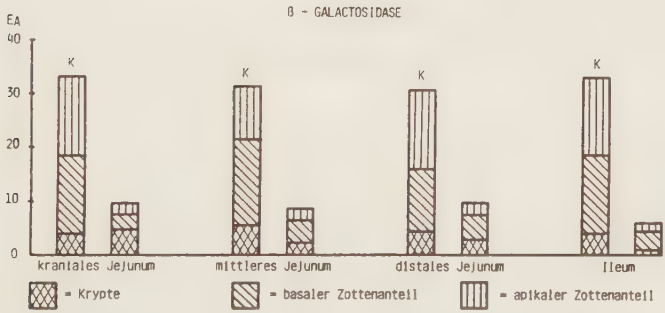

Abb. 11 Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli

a: Leucinaminopeptidase

b: ß-Galactosidase

K: Kontrolle

Das 50 Stunden alte Tier läßt eine leicht erhöhte Aktivität an der Zottenbasis erkennen, während beim 42 Stunden alten Kalb die Verteilung entlang der Villi gleichmäßig ist.

Die Kryptepithelzellen sind schwach bis geringgradig positiv.

Die Enterozyten der Pseudovilli verhalten sich wie die der Kontrolltiere.

5. Succinatdehydrogenase (Tab. 6, Abb. 12)

Wie alle bisher besprochenen Enzyme führte diese Infektion auch bei der Succinatdehydrogenase zu einem ausgeprägten Abfall, bei dem auch die beiden Tiere analog den bereits besprochenen Enzymen reagieren.

Die Verteilung entlang der Villi ist in etwa gleichmäßig.

Die Kryptaktivität entspricht mit einem Wert von "+" dem der Kontrolltiere.

Entlang der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten sind die Enterozyten schwächer angefärbt als bei Kontrolltieren.

V. Infektion mit E.coli und anschließend Rota Virus

Beide Tiere weisen in etwa übereinstimmende Befunde auf, so daß das Mittel gebildet wurde. Unterschiede zwischen beiden Kälbern werden angesprochen.

1. Alkalische Phosphatase (Tab. 7, Abb. 13)

Während die Gesamtenzymaktivität im kranialen Jejunum weitgehend dem Kontrollwert entspricht, zeichnet sich nach kaudal

Abb. 12

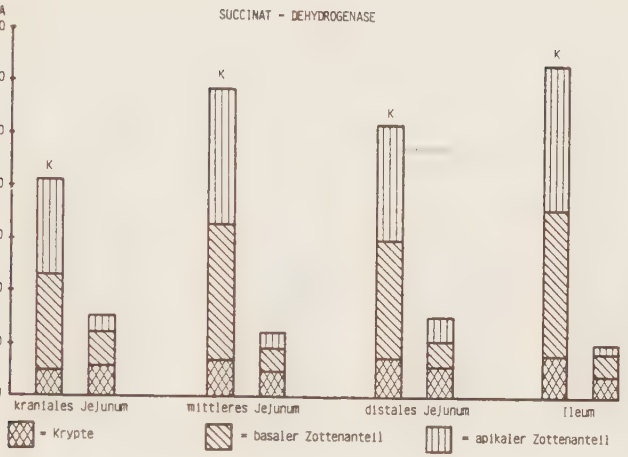

Abb. 12 Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli
Succinat – Dehydrogenase

K: Kontrolle

Abb. 13

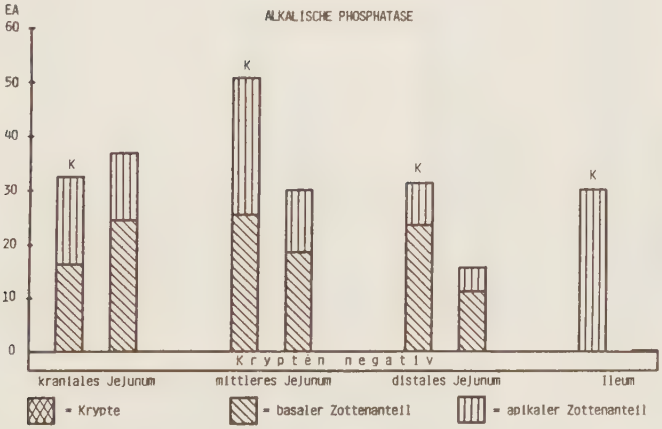

Abb. 13 Infektion mit E.coli und anschließend Rota Virus
Alkalische Phosphatase

K: Kontrolle

eine Reduktion des Enzymgehalts ab. Im Ileum ist bei beiden infizierten Tierendie AP nicht mehr nachweisbar.

Die Verteilung entlang der einzelnen Villi bleibt in etwa gleich.

In den Kryptepithelzellen fehlt die AP.

Die Enterozyten der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten sind positiv.

2. Saure Phosphatase (Tab. 7, Abb. 14a)

Die Gesamtaktivität EA der Sauren Phosphatase fällt erst im Ileum wesentlich unter den Kontrollwert, während im vorgeschalteten Dünndarm nur eine leichte Abnahme besteht.

Entlang der Zotte ist die SP annähernd gleichmäßig verteilt.

Die Kryptaktivität entspricht bei einem Tier dem Kontrollwert, beim zweiten jedoch liegt sie deutlich darüber.

Die Aktivität der Pseudovilli bewegt sich im Normalbereich.

3. Leucinaminopeptidase (Tab. 7, Abb. 14b)

In allen untersuchten Darmabschnitten ist die LAP gegenüber den Kontrollwerten reduziert. Besonders groß ist der Unterschied im Ileum, wo die infizierten Tiere weniger als die Hälfte der Gesamtenzymaktivität (EA) der Kontrollkälber erreichen.

Eine bevorzugte Lokalisation der LAP im basalen oder apikalen Zottenanteil ist nicht zu erkennen.

Die Kryptepithelzellen reagieren beim 74 Std. alten Kalb schwach bis mittelgradig positiv und übertreffen damit den Kontrollwert weit. Beim 92 Std. alten Tier waren sie negativ.

Abb. 14a

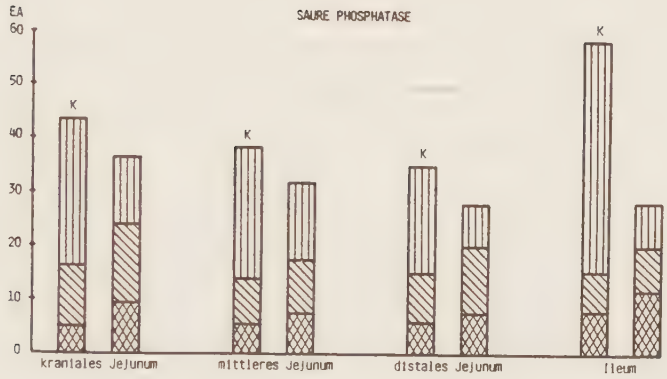

Abb. 14b

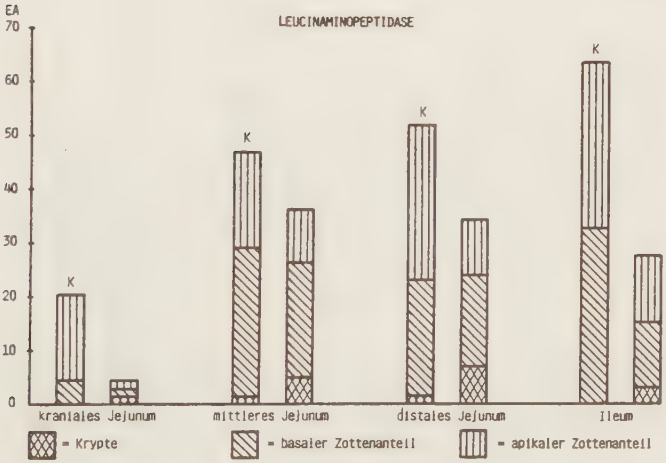

Abb. 14 Infektion mit E.coli und anschließend Rota Virus

a: Saure Phosphatase

b: Leucinaminopeptidase

K: Kontrolle

Die Pseudovilli verhalten sich wie die der Kontrolltiere.

4. ß-Galactosidase (Tab. 7, Abb. 15a)

Die ß-Galactosidase ist entlang des gesamten Dünndarms deutlich vermindert. Nur der Wert im mittleren Jejunum weicht von dieser Regel ab. Da dieser Durchschnittswert auf einem relativ hohen Einzelwert eines Kalbes beruht, dürfte es sich wohl um eine individuelle Schwankung handeln.

Entlang der Villi ist die ß-Galactosidase wie bei den Kontrollkälbern gleichmäßig verteilt.

Die Aktivität in den Krypten (schwach bis geringgradig positiv) ist der bei Kontrollkälbern vergleichbar.

Die Enterozyten der Pseudovilli zeigen keine Veränderungen.

5. Succinatdehydrogenase (Tab. 7, Abb. 15b)

Die Succinatdehydrogenase ist ebenso wie die LAP und ß-Galactosidase in allen überprüften Lokalisationen reduziert, wobei der Abfall nach kaudal stärker wird. Im Ileum beträgt der Unterschied zur Kontrolle 41,0 Einheiten.

Die Enterozyten der Zottenbasis und-spitze färben sich weitgehend gleichmäßig an.

Nur bei einem Kalb übertrifft die Kryptaktivität mit einem Wert von "+" im kranialen und mittleren Jejunum den Kontrollwert. Im übrigen ergeben sich keine Abweichungen.

Die Aktivität in den Epithelzellen der Pseudovilli ist vermindert.

Abb. 15a

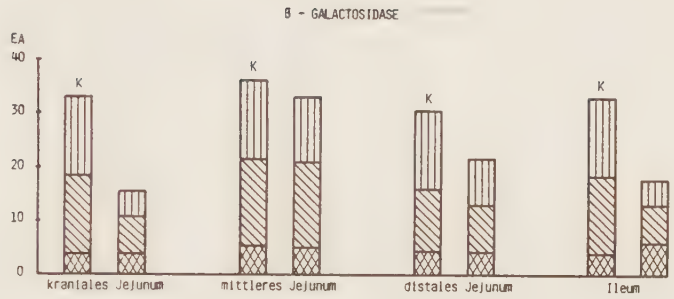

Abb. 15b

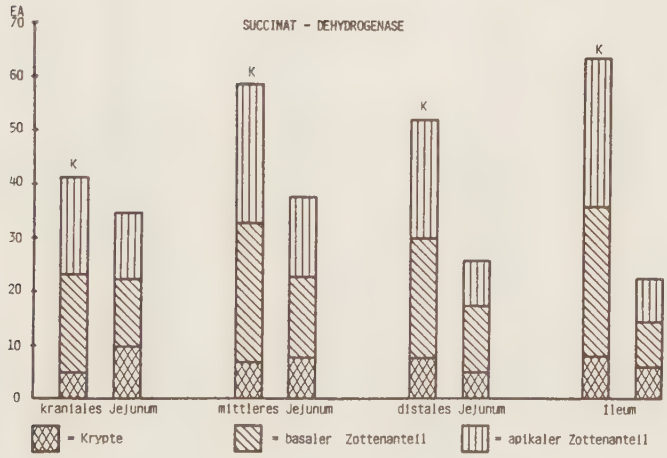

Abb. 15 Infektion mit E.coli und anschließend Rota Virus

a: ß-Galactosidase

b: Succinat-Dehydrogenase

K: Kontrolle

VI. Mischinfektion: E.coli und Rota Virus gleichzeitig

Da beide untersuchten Kälber zu unterschiedlichen Zeiten p. inf. getötet wurden und stark voneinander abweichen, wird jedes Tier einzeln besprochen.

1. Alkalische Phosphatase (Tab. 8 u. 9, Abb. 16a)

Die Alkalische Phosphatase weist erhebliche Unterschiede zwischen beiden untersuchten Kälbern auf. Jenes Kalb, das acht Std.nach Auftreten von Diarrhoe getötet wurde, zeigt einen Anstieg der AP im kranialen und mittleren Jejunum. Das zweite Tier, das 25 Std.an Durchfall litt, läßt eine ausgeprägte Enzymreduktion in diesem Bereich erkennen. Im distalen Jejunum und Ileum kommt es bei beiden Tieren zur Enzymabnahme.

Die Enzymaktivität ist entlang der Villi ungleichmäßig verteilt.

Die Kryptepithelzellen lassen sich nicht anfärben.

Das Epithel der Pseudovilli über den Peyer'schen Platten ist negativ wie bei den Kontrolltieren.

2. Saure Phosphatase (Tab. 8 u. 9, Abb. 16b)

Der Unterschied zwischen den beiden Kälbern wird im Verhalten der Sauren Phosphatase noch deutlicher. Wie die Alkalische Phosphatase steigt auch die Saure Phosphatase beim frühzeitig getöteten Tier im vorderen Dünndarm stark an. Die Differenz zu den Kontrollen beträgt 50,1 Einheiten. Erst im Ileum sinkt der Wert unter den der Kontrolltiere ab.

Das zweite, länger erkrankte Tier hat eine wesentlich niedrigere Enzymaktivität, wenngleich hier auffällt, daß die

Abb. 16a

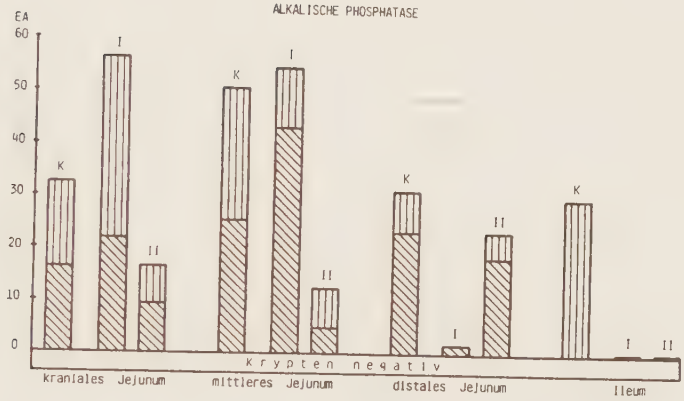

Abb. 16b

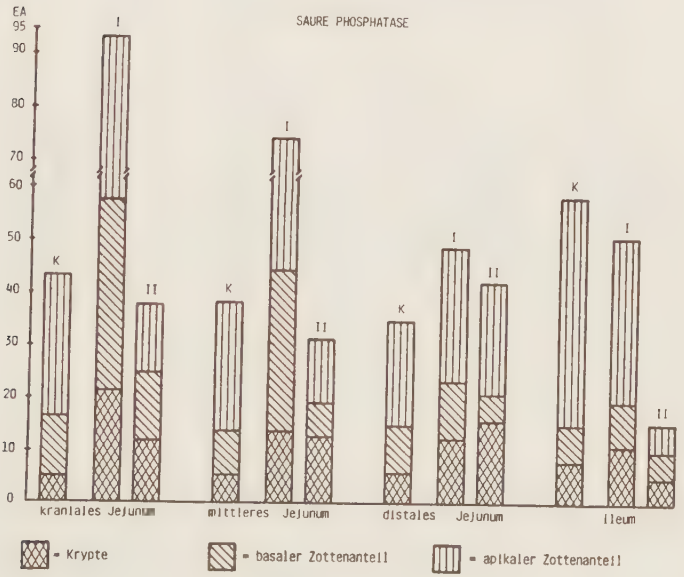

Abb. 16 Infektion mit Rota Virus und E.coli gleichzeitig

a: Alkalische Phosphatase

b: Saure Phosphatase

K: Kontrolle

I: Kalb Nr. 26, 8 h Diarrhoe

II: Kalb Nr. 36, 25 h Diarrhoe

Werte, abgesehen vom Ileum, nur wenig unter den Kontrollen liegen. Bei beiden Tieren ist im kranialen und mittleren Jejunum der Enzymgehalt entlang der Zotte gleichmäßig verteilt. Im distalen Dünndarm tritt wie bei den Kontrolltieren eine Verschiebung zur Zottenspitze ein.

Eine Erhöhung der Kryptaktivität findet sich bei beiden Tieren. Besonders eklatant ist der Anstieg im kranialen Jejunum beim frühzeitig getöteten Kalb um mehr als das Vierfache. Im Ileum entspricht die Kryptaktivität in etwa dem Normalwert.

Die Enterozyten der Pseudovilli entsprechen den Kontrollen und zeigen wie diese einen Gradienten von Basis zur Spitze.

3. Leucinaminopeptidase (Tab. 8 u. 9, Abb. 17)

Die LAP ist bei dem früher getöteten Kalb am Anfang des Jejunums erhöht und erreicht hier mit 38,1 Einheiten fast das Doppelte des Kontrollwertes. Ab mittlerem Jejunum fällt sie dann jedoch weit unter den Normalwert. Beim länger erkrankten Tier besteht in allen untersuchten Darmabschnitten eine ausgeprägte Verminderung.

Entlang der einzelnen Villi ist ein stärkerer Gehalt von apikalem oder basalem Zottenanteil nicht zu erkennen.

Die Kryptepithelzellen reagieren schwach bis geringgradig positiv und verhalten sich somit ähnlich wie die der Kontrolltiere.

Das Epithel der Pseudovilli unterscheidet sich nicht von den Kontrollen.

Abb. 17

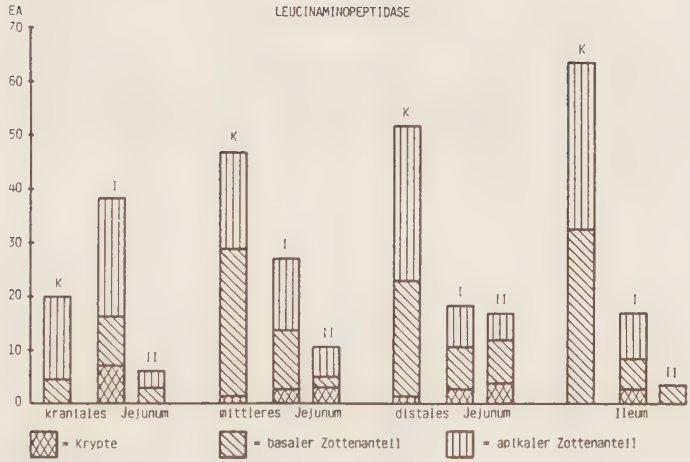

Abb. 17 Infektion mit Rota Virus und E.coli gleichzeitig
Leucinaminopeptidase

K: Kontrolle
I: Kalb Nr. 26, 8 h Diarrhoe
II: Kalb Nr. 36, 25 h Diarrhoe

4. ß-Galactosidase (Tab. 8 u. 9, Abb. 18a)

Bei der ß-Galactosidase ist der Anstieg im kranialen Jejunum beim frühzeitig getöteten Tier nur mehr angedeutet. Ab mittleren Jejunum kommt es - wie beim älteren Tier schon im kranialen Jejunum - zu einem deutlichen Abfall der Enzymaktivität. Die Verteilung entlang der Zotte ist dabei annähernd gleichbleibend.

Die Kryptepithelzellen sind schwach bis geringgradig positiv, beim jüngeren Tier im vorderen Dünndarm negativ.

Die Aktivität der Pseudovilli entspricht der der Kontrollen.

5. Succinatdehydrogenase (Tab. 8 u. 9, Abb. 18b)

Im wesentlichen verhält sich die SDH bei gleichzeitiger Infektion wie die zuvor besprochenen Enzyme. Das frühzeitig getötete Kalb zeigt im kranialen und mittleren Jejunum deutlich höhere Enzymwerte als das zweite Tier, die jedoch den Kontrollwerten entsprechen. Im kaudalen Jejunum und Ileum ist die Enzymaktivität beider Tiere verringert, die des älteren Kalbes aber um bis zu 27,8 Einheiten mehr als die des jüngeren.

Auffallend ist die vermehrte Aktivität im basalen Zottenanteil der Enterozyten des vorderen Dünndarms beim jüngeren Kalb. Nach kaudal hin ist die Aktivität entlang der Zotte gleichmäßig verteilt.

Die Krypepithelzellen sind beim frühzeitig getöteten Tier gering- bis mittelgradig positiv und zeigen somit einen höheren Enzymgehalt als bei den Kontrolltieren. Beim zweiten Kalb weichen die Werte nicht von denen der Kontrollen ab.

Die Enzymaktivität in Epithelzellen der Pseudovilli ist vermindert.

Abb. 18a

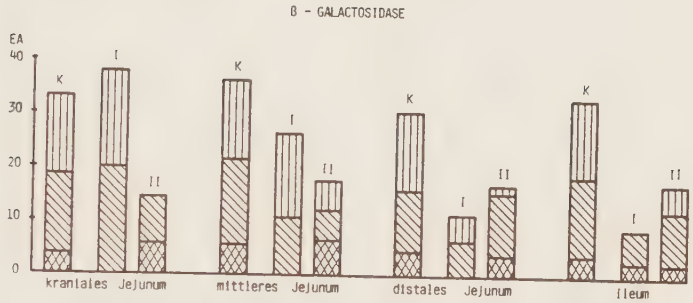

Abb. 18b

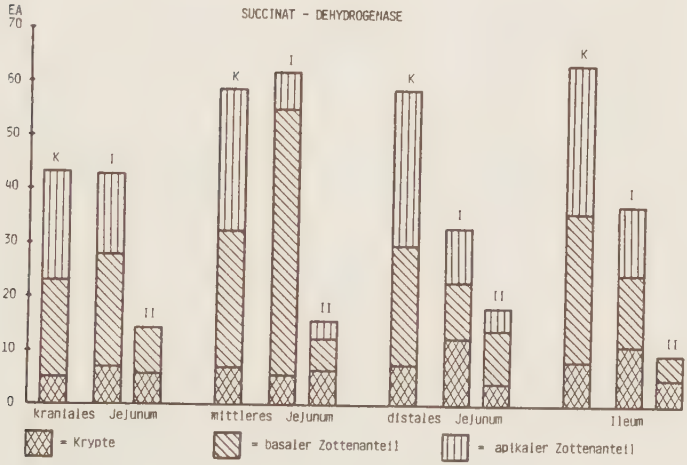

Abb. 18 Infektion mit Rota Virus und E.coli gleichzeitig

a: ß-Galactosidase

b: Succinat-Dehydrogenase

K: Kontrolle

I: Kalb Nr. 26, 8 h Diarrhoe

II: Kalb Nr. 36, 25 h Diarrhoe

Tabelle 1 Durchschnitt Kontrolle

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum			Ileum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,6	0,0	0,0	0,56	0,0	0,0	0,61	0,0	0,0	0,82	0,0
	Basis:	2,0	0,81	16,3	2,0	1,27	25,4	1,5	1,55	23,3	0,0	0,32	0,0
	Spitze:	2,0	0,81	16,3	2,0	1,27	25,4	1,0	0,8	8,0	1,0	2,98	29,8
Saure Phosphatase	Krypte:	1,0	0,51	5,1	1,0	0,56	5,6	1,0	0,61	6,1	1,0	0,82	8,2
	Basis:	2,0	0,57	11,3	2,0	0,42	8,4	1,2	0,74	8,9	1,5	0,47	7,1
	Spitze:	2,5	1,08	27,1	2,0	1,22	24,4	2,0	1,0	20,1	2,5	1,73	43,2
Leuciamino-peptidase	Krypte:	0,4	0,6	0,25	0,2	0,75	1,5	0,2	0,75	1,5	0,0	0,82	0,0
	Basis:	0,7	0,66	4,6	2,0	1,37	27,4	2,5	0,85	21,4	3,0	1,09	32,7
	Spitze:	1,0	1,56	15,6	1,5	1,2	18,0	2,0	1,44	28,9	2,0	1,55	31,0
ß-Galacto-sidase	Krypte:	0,7	0,54	3,8	1,0	0,56	5,6	0,7	0,64	4,5	0,5	0,82	4,1
	Basis:	1,5	0,98	14,7	2,0	0,79	15,9	1,0	1,14	11,4	1,0	1,45	14,5
	Spitze:	1,5	0,98	14,7	2,0	0,74	14,8	1,5	0,98	14,7	1,0	1,45	14,5
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,0	0,51	5,1	1,2	0,57	6,9	1,2	0,63	7,6	1,0	0,82	8,2
	Basis:	2,0	0,9	18,1	2,0	1,29	25,9	2,0	1,11	22,2	2,0	1,38	27,7
	Spitze:	2,0	0,9	18,1	2,0	1,29	25,9	2,0	1,11	22,2	2,0	1,38	27,7

Tabelle 2 Infektion mit Rota Virus (Tötung 20-24 h p. inf.)

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum			Ileum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,6	0,0	0,0	0,54	0,0	0,0	0,39	0,0	0,0	0,62	0,0
	Basis:	2,7	1,22	32,9	1,7	0,68	11,5	1,2	0,67	8,1	1,5	0,69	10,4
	Spitze:	2,2	1,08	23,9	1,1	1,19	13,1	0,7	0,7	4,9	1,5	0,71	10,6
Saure Phosphatase	Krypte:	1,2	0,6	7,2	1,2	0,57	6,9	1,5	0,39	5,9	2,5	0,66	16,5
	Basis:	2,0	1,12	22,5	1,9	0,85	16,2	1,4	0,41	5,8	3,0	0,84	25,2
	Spitze:	2,0	1,12	22,5	2,1	0,91	19,1	2,1	1,27	26,7	3,0	0,84	25,2
Leucinamino-peptidase	Krypte:	0,6	0,61	3,7	0,7	0,58	4,1	0,5	0,4	2,0	0,7	0,68	4,8
	Basis:	1,1	0,9	9,9	2,5	0,64	16,0	2,0	0,45	9,1	3,0	0,84	25,2
	Spitze:	1,4	1,38	19,3	1,2	1,39	16,7	1,2	0,96	11,5	3,0	0,84	25,2
ß-Galacto-sidase	Krypte:	0,6	0,63	3,8	0,6	0,61	3,7	0,4	0,32	1,3	0,5	0,64	3,2
	Basis:	1,2	1,27	15,3	1,2	0,85	10,2	1,2	0,59	7,1	2,0	0,84	16,9
	Spitze:	1,4	1,11	15,5	1,4	0,63	8,9	1,2	0,59	7,1	2,0	0,84	16,9
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,2	0,67	8,1	1,5	0,57	8,5	1,0	0,39	3,9	1,0	0,64	6,4
	Basis:	2,1	1,1	23,2	1,9	0,87	16,5	1,7	0,79	13,5	2,0	0,74	14,9
	Spitze:	2,2	1,28	28,2	1,5	0,68	10,2	1,6	0,7	11,2	1,5	0,85	12,7

Tabelle 3 Infektion mit Rota Virus (Tötung 40-95 h p. inf.)

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum			Ileum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,57	0,0	0,0	0,61	0,0	0,0	0,57	0,0	0,0	0,63	0,0
	Basis:	2,7	1,04	28,2	2,7	1,18	31,9	0,0	0,42	0,0	0,0	0,58	0,0
	Spitze:	2,0	0,59	11,9	1,3	0,27	3,5	1,0	0,75	7,5	0,3	0,5	1,5
Saure Phosphatase	Krypte:	2,3	0,57	13,1	2,0	0,58	11,6	2,3	0,54	12,4	2,3	0,59	13,6
	Basis:	3,0	0,88	26,4	2,7	0,83	22,4	2,0	0,58	11,6	2,0	0,69	13,8
	Spitze:	2,3	0,65	14,9	2,0	0,77	15,5	1,7	0,72	12,2	1,7	0,53	9,3
Leucinamino-peptidase	Krypte:	0,0	0,57	0,0	0,5	0,6	3,0	0,8	0,56	4,5	0,3	0,6	1,8
	Basis:	0,3	0,9	2,7	2,3	1,08	24,9	2,7	0,73	19,7	2,7	0,78	21,0
	Spitze:	0,2	0,85	1,7	1,0	0,45	4,5	1,8	0,56	10,1	1,5	0,4	6,0
ß-Galacto-sidase	Krypte:	1,0	0,57	5,7	0,8	0,64	5,1	0,7	0,53	3,7	0,7	0,58	4,1
	Basis:	2,0	0,79	15,8	2,0	1,02	20,5	1,0	0,66	6,6	1,0	0,84	8,4
	Spitze:	1,7	0,63	10,7	1,3	0,71	9,3	1,0	0,66	6,6	0,7	0,46	3,2
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,3	0,56	7,3	1,3	0,62	8,1	1,3	0,57	7,4	1,7	0,58	9,9
	Basis:	2,3	0,87	20,0	2,3	0,97	22,4	2,0	0,74	14,9	2,0	0,71	14,3
	Spitze:	1,3	0,72	9,4	1,3	0,86	11,2	1,0	0,78	7,8	1,3	0,55	7,2

Tabelle 4 Infektion mit E.coli, Dosis 10^{10}

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,58	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,52	0,0
	Basis:	2,0	0,98	19,6	0,0	0,78	0,0	0,0	0,63	0,0
	Spitze:	1,0	0,88	8,8	1,0	0,78	7,8	0,0	0,63	0,0
Saure Phosphatase	Krypte:	1,0	0,58	5,8	1,0	0,6	6,0	1,0	0,52	5,2
	Basis:	3,0	0,41	12,3	2,0	0,47	9,5	1,0	0,69	6,9
	Spitze:	2,0	0,33	6,6	2,0	0,47	9,5	3,0	0,46	13,8
Leucinamino-peptidase	Krypte:	0,5	0,58	2,9	0,5	0,6	3,0	0,5	0,52	2,6
	Basis:	1,0	0,87	8,7	1,5	0,8	12,0	2,0	0,5	10,0
	Spitze:	2,0	0,75	15,0	1,5	0,8	12,0	1,0	0,97	9,7
ß-Galacto-sidase	Krypte:	1,0	0,58	5,8	1,0	0,6	6,0	1,0	0,52	5,2
	Basis:	1,0	0,76	7,6	1,0	0,7	7,0	1,0	0,63	6,3
	Spitze:	1,0	0,76	7,6	1,0	0,7	7,0	1,0	0,63	6,3
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,0	0,58	5,8	1,0	0,6	6,0	0,5	0,52	2,6
	Basis:	2,0	0,7	14,0	1,0	0,75	7,5	1,0	0,33	3,3
	Spitze:	1,0	1,16	11,6	1,0	0,75	7,5	0,0	0,83	0,0

Tabelle 5 Infektion mit E.coli, Dosis 10^7

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,51	0,0	0,0	0,64	0,0	0,0	0,58	0,0
	Basis:	2,0	0,59	11,5	1,0	0,3	3,0	0,0	0,87	0,0
	Spitze:	1,0	1,68	16,8	0,5	1,63	0,81	1,0	0,89	8,9
Saure Phosphatase	Krypte:	0,5	0,51	2,5	0,5	0,64	3,2	0,5	0,58	2,9
	Basis:	0,5	1,11	5,5	0,5	0,22	1,1	0,5	0,24	1,2
	Spitze:	0,5	1,11	5,5	1,0	0,68	6,8	2,0	0,65	13,0
Leucinamino-peptidase	Krypte:	0,5	0,51	2,5	0,5	0,64	3,2	0,5	0,58	2,9
	Basis:	2,0	1,45	29,0	3,0	0,48	14,4	3,0	0,56	16,8
	Spitze:	3,0	0,73	21,9	2,0	1,16	23,2	3,0	0,56	16,8
ß-Galacto-sidase	Krypte:	1,0	0,51	5,1	0,5	0,64	3,2	0,5	0,58	2,9
	Basis:	2,0	1,11	22,2	2,0	0,33	6,6	2,0	0,56	11,2
	Spitze:	2,0	1,11	22,2	1,0	0,53	5,3	2,0	0,56	11,2
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,0	0,51	5,1	1,0	0,64	6,4	0,5	0,58	2,9
	Basis:	2,0	1,11	22,2	2,0	0,82	16,4	2,0	0,55	11,0
	Spitze:	2,0	1,11	22,2	1,0	0,4	4,0	1,0	0,19	1,9

Tabelle 6 Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum			Ileum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,51	0,0	0,0	0,33	0,0	0,0	0,4	0,0	0,0	0,36	0,0
	Basis:	2,0	0,28	5,7	1,5	0,42	6,4	0,5	0,64	3,2	0,0	0,23	0,0
	Spitze:	3,0	0,33	9,9	1,0	0,22	2,2	0,5	0,63	3,2	0,0	0,23	0,0
Saure Phosphatase	Krypte:	0,7	0,68	4,8	1,0	0,49	4,9	0,7	0,7	4,9	0,7	0,48	3,4
	Basis:	1,5	0,23	3,5	1,0	0,25	2,5	1,0	0,27	2,7	1,5	0,34	5,1
	Spitze:	1,5	0,28	4,3	1,5	0,29	4,4	1,5	0,33	5,0	1,5	0,34	5,1
Leucinamino-peptidase	Krypte:	0,0	0,51	0,0	0,5	0,32	1,6	0,5	0,4	2,0	0,0	0,46	0,0
	Basis:	0,5	0,18	0,9	2,0	0,25	5,0	2,0	0,6	12,0	2,5	0,53	13,3
	Spitze:	1,0	0,51	5,1	1,0	0,33	3,3	1,0	0,38	3,8	0,7	1,31	9,2
ß-Galacto-sidase	Krypte:	0,7	0,68	4,8	0,5	0,48	2,4	0,5	0,58	2,9	0,2	0,45	0,9
	Basis:	0,7	0,41	2,9	0,7	0,58	4,1	0,7	0,66	4,6	1,2	0,31	3,6
	Spitze:	1,2	0,17	2,1	1,2	0,18	2,2	0,5	0,46	2,3	0,7	0,23	1,6
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,0	0,61	6,1	1,0	0,49	4,9	1,0	0,59	5,9	1,0	0,43	4,3
	Basis:	2,5	0,25	6,2	2,0	0,21	4,2	1,5	0,33	4,9	1,5	0,27	4,1
	Spitze:	1,0	0,32	3,2	1,0	0,34	3,4	1,0	0,46	4,6	0,7	0,31	2,2

Tabelle 7 Infektion mit E.coli und anschließend Rota Virus

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum			Ileum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,64	0,0	0,0	0,51	0,0	0,0	0,51	0,0	0,0	0,6	0,0
	Basis:	3,0	0,82	24,6	2,5	0,73	18,4	1,5	0,74	11,1	0,0	0,65	0,0
	Spitze:	2,5	0,5	12,5	1,5	0,77	11,6	1,0	0,45	4,5	0,0	0,65	0,0
Saure Phosphatase	Krypte:	1,5	0,64	9,6	1,5	0,51	7,7	1,2	0,65	7,8	2,0	0,6	12,0
	Basis:	2,0	0,72	14,4	1,5	0,64	9,7	2,0	0,61	12,3	2,0	0,41	8,3
	Spitze:	1,5	0,82	12,4	2,5	0,58	14,6	1,5	0,52	7,8	2,0	0,41	8,3
Leucinamino-peptidase	Krypte:	0,2	0,75	1,5	1,0	0,51	5,1	1,0	0,7	7,0	0,5	0,6	3,0
	Basis:	0,2	0,8	1,6	2,5	0,84	21,2	2,5	0,67	16,9	3,0	0,41	12,3
	Spitze:	0,2	0,8	1,6	1,5	0,66	10,0	2,0	0,52	10,4	3,0	0,41	12,3
ß-Galacto-sidase	Krypte:	0,5	0,64	3,2	1,0	0,51	5,1	0,7	0,61	4,3	1,0	0,6	6,0
	Basis:	1,0	0,77	7,7	2,0	0,8	16,0	1,5	0,58	8,7	2,0	0,36	7,2
	Spitze:	1,5	0,31	4,7	1,5	0,8	12,1	1,5	0,58	8,7	1,0	0,46	4,6
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,5	0,64	9,8	1,5	0,51	7,7	1,0	0,52	5,2	1,0	0,6	6,0
	Basis:	2,0	0,62	12,5	2,0	0,75	15,0	2,0	0,6	12,1	2,0	0,41	8,3
	Spitze:	2,0	0,62	12,5	2,0	0,75	15,0	1,5	0,56	8,5	2,0	0,41	8,3

Tabelle 8 Mischinfektion mit Rota Virus und E.coli gleichzeitig (8 Std. Diarrhoe)

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum			Ileum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,72	0,0	0,0	0,56	0,0	0,0	0,63	0,0	0,0	0,56	0,0
	Basis:	3,0	0,73	21,9	3,0	1,44	43,2	0,5	0,37	1,8	0,0	0,63	0,0
	Spitze:	2,0	1,73	34,6	2,0	0,56	11,2	0,0	0,61	0,0	0,0	0,63	0,0
Saure Phosphatase	Krypte:	3,0	0,72	21,6	2,5	0,56	14,0	2,0	0,63	12,6	2,0	0,56	11,2
	Basis:	3,0	1,2	36,0	3,0	1,01	30,3	2,0	0,55	11,0	2,0	0,42	8,4
	Spitze:	3,0	1,2	36,0	3,0	1,01	30,3	3,0	0,85	25,5	3,0	1,05	31,5
Leucinamino-peptidase	Krypte:	1,0	0,72	7,2	0,5	0,56	2,8	0,5	0,63	3,1	0,5	0,56	2,8
	Basis:	1,5	0,62	9,3	2,0	0,55	11,0	1,0	0,77	7,7	2,0	0,28	5,6
	Spitze:	2,0	1,08	21,6	1,0	1,34	13,4	1,0	0,77	7,7	1,0	0,86	8,6
ß-Galacto-sidase	Krypte:	0,0	0,72	0,0	0,0	0,56	0,0	0,0	0,63	0,0	0,5	0,56	2,8
	Basis:	1,0	2,0	20,0	1,0	1,09	10,9	0,5	1,33	6,6	1,0	0,62	6,2
	Spitze:	2,0	0,9	18,0	2,0	0,78	15,6	1,0	0,49	4,9	0,0	0,75	0,0
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,0	0,72	7,2	1,0	0,56	5,6	2,0	0,63	12,6	2,0	0,56	11,2
	Basis:	2,0	1,04	20,8	3,0	1,65	49,5	2,0	0,51	10,2	3,0	0,44	13,2
	Spitze:	1,0	1,49	14,9	1,0	0,69	6,9	1,0	1,05	10,5	2,0	0,65	13,0

Tabelle 9 Mischinfektion mit Rota Virus und E.coli gleichzeitig (24 Std. Diarrhoe)

		kraniales Jejunum			mittleres Jejunum			kaudales Jejunum			Ileum		
		Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA	Intensität	mm Mucosa	EA
Alkalische Phosphatase	Krypte:	0,0	0,59	0,0	0,0	0,65	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,5	0,0
	Basis:	2,0	0,47	9,4	2,0	0,25	5,0	2,0	0,92	18,4	0,0	0,53	0,0
	Spitze:	1,0	0,73	7,3	1,0	0,76	7,6	1,0	0,54	5,4	0,0	0,53	0,0
Saure Phosphatase	Krypte:	2,0	0,59	11,8	2,0	0,65	13,0	2,0	0,8	16,0	1,0	0,5	5,0
	Basis:	2,0	0,65	13,1	1,0	0,62	6,2	1,0	0,49	4,9	1,0	0,53	5,3
	Spitze:	2,0	0,65	13,1	2,0	0,61	12,2	2,0	1,07	21,4	1,0	0,53	5,3
Leucinamino-peptidase	Krypte:	0,0	0,59	0,0	0,5	0,65	3,2	0,5	0,8	4,0	0,0	0,5	0,0
	Basis:	0,5	0,65	3,2	0,5	0,38	1,9	1,0	0,79	7,9	0,5	0,7	3,5
	Spitze:	0,5	0,65	3,2	1,0	0,57	5,7	1,0	0,79	7,9	0,0	0,25	0,0
ß-Galacto-sidase	Krypte:	1,0	0,59	5,9	1,0	0,65	6,5	0,5	0,8	4,0	0,5	0,5	2,5
	Basis:	1,0	1,05	10,5	1,0	0,56	5,6	1,0	1,14	11,4	1,0	0,97	9,7
	Spitze:	0,5	0,44	2,2	1,0	0,56	5,6	0,5	0,33	1,6	2,0	0,27	5,4
Succinat-dehydrogenase	Krypte:	1,0	0,59	5,9	1,0	0,65	6,5	0,5	0,8	4,0	1,0	0,5	5,0
	Basis:	1,0	0,86	8,6	1,0	0,58	5,8	1,0	1,0	10,0	1,0	0,46	4,6
	Spitze:	0,0	0,38	0,0	0,5	0,7	3,5	0,5	0,87	4,3	0,0	0,57	0,0

DISKUSSION

I. Kontrolltiere

Vor der Besprechung der einzelnen Infektionsgruppen soll auf die Verhältnisse bei den Kontrolltieren eingegangen werden.

Im Gegensatz zu Landsverk (1980), Morales (1980) und Zindel (1980), bei denen die Alkalische Phosphatase von kranial nach kaudal absinkt, bleiben die Werte bei den hier untersuchten Tieren etwa gleich. Als Ursache dafür spielt möglicherweise das unterschiedliche Alter bzw. die Tatsache eine Rolle, daß die Tiere, die die zitierten Autoren untersuchten im Gegensatz zu den hier verwendeten Kolostrum erhielten. Die extrem hohen Werte im distalen Jejunum und Ileum sind allein durch die hier auftretende größere Zottenlänge bedingt. Die von verschiedenen Autoren (Johnson u. Kugler 1953, Moog u. Grey 1967, Nordström et al 1968, Fowler u. Rohouvsky 1970, Hornich et al 1974, van Dongen et al 1977, Gutschmidt et al 1980) bei anderen Tierarten im gesamten Darm beschriebene Zunahme der Alkalischen Phosphatase zur Zottenspitze hin, konnte bei den hier untersuchten Kontrollkälbern auf Grund der streckenbezogenen Auswertung nur im distalen Dünndarm beobachtet werden.

Wie auch bei Landsverk (1980) enthielten in den eigenen Untersuchungen die Kryptepithelzellen keine histochemisch darstellbare AP.

Auch das Fehlen der AP in den Epithelzellen der Pseudovilli (Landsverk 1981a) konnte bestätigt werden. Die Anreicherung im supranucleären Zytoplasma und auf der luminalen Oberfläche (Landsverk 1980, Morales 1980) zeigte sich auch bei den eigenen Auswertungen.

Die Untersuchungen der Sauren Phosphatase bei Kontrolltieren weisen entlang des Dünndarms eine gleichmäßige Verteilung auf und stimmen mit den von Landsverk (1980) erhobenen Befunden überein. Das gleiche gilt für die Verteilung der Aktivität entlang der Zotte und das Auftreten in den Kryptepithelzellen (Landsverk 1980, Zindel 1980).

Der von Landsverk (1981a,c) beschriebene Abfall der Enzymaktivität von der Basis der Pseudovilli zur Spitze, konnte nachvollzogen werden, wenngleich die Abnahme nur sehr wenig ausgeprägt ist.

Auch die Verteilung der SP in der Zelle ist mit den Ergebnissen anderer Autoren vergleichbar (Spiro et al 1964, Klein et al 1967, Floch et al 1970, Fowler u. Rohouvsky 1970, Saloniemi u. Rahko 1972, Hornich et al 1974, Landsverk et al 1980). Ob es sich bei der luminalen Lokalisation der SP um den Bürstensaum handelt, kann aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen nicht beurteilt werden.Im Gegensatz zu Landsverk (1980) lag keine Korrelation des Auftretens dieses "Bürstensaums" zum untersuchten Darmabschnitt vor. Die Ursachen dafür sind unbekannt.

Die Zunahme der Leucinaminopeptidase von kranial nach kaudal (Landsverk 1980, Zindel 1980) trat bei den hier untersuchten Kontrolltieren ebenso auf wie die erhöhte Aktivität an der Zottenbasis (Zindel 1980).

Im Gegensatz zu Landsverk (1980), bei dem die LAP in Kryptepithelzellen negativ war und Zindel, bei dem sie leicht positiv reagierten, fanden sich im eigenen Untersuchungsmaterial einzelne positive und einzelne negative Tiere. Es erscheint möglich, daß einzelne Individuen, wie beim Menschen, unterschiedlich reagieren (Dawson u. Pryse-Davies 1970).

Das Epithel der Pseudovilli zeigt die von Landsverk (1981a) beschriebene schwach positive Reaktion. Die Lokalisation der LAP nahe der apikalen Zellmembran entspricht den Angaben der Literatur (Nachlas et al 1960, Landsverk 1980).

Die ß-Galactosidase tritt in drei Isoenzymen auf. Histochemische Nachweisverfahren existieren für die neutrale und saure Fraktion, wobei die letztere in ihrem Auftreten konstanter und intensiver ist (Lojda 1965). Auch in den Vorversuchen ergaben sich bei Reaktion im sauren Millieu etwas höhere Aktivitätsgrade, was die Auswertungsmöglichkeiten so verbesserte, daß diesem Nachweis der Vorzug gegeben wurde.

Im Gegensatz zu anderen Autoren (Toofanian et al 1974, Halpin u. Caple 1976, Zindel 1980) war der Abfall vom kranialen Dünndarm nach kaudal nicht deutlich, ohne daß dafür eine Erklärung möglich ist.

Entlang der Zotte ist die Verteilung - wie auch quantitative Untersuchungen des sauren Isoenzyms ergaben (Nordstöm et al 1969, Nordström u. Dahlquist 1973) - gleichmäßig.

Übereinstimmung besteht mit Zindel (1980) darin, daß die Kryptepithelzellen ß-Galactosidase enthalten.

Im Gegensatz zu Landsverk (1981a) sind die Epithelzellen der "ileal domes" (= Pseudovilli über den Peyer'schen Platten) positiv.

Die Succinatdehydrogenase zeigt wie in anderen Untersuchungen (Dawson u. Pryse-Davies 1970, Fowler u. Rohouvsky 1970, Landsverk 1980) ein gleichmäßiges Auftreten im gesamten Dünndarm.

In Kongruenz mit Landsverk (1980) zeigen eigene Untersuchungen keine Schwankungen im Bereich einer Zotte, wohl aber

- und dies steht im Gegensatz zu eben zitiertem Autor - sind die Kryptepithelzellen deutlich schwächer angefärbt. Was die Aktivität in den Epithelzellen der Pseudovilli betrifft, so gleichen sich die Ergebnisse wiederum.

II. Infektion mit Rota Virus

Bisher fehlen Untersuchungen über das Verhalten enteraler Enzyme beim Kalb nach einer gezielten Infektion mit Rota Virus allein. Die hier erarbeiteten Daten werden daher mit den Ergebnissen von natürlich infizierten Tieren verglichen.

Bei den untersuchten Kälbern zeigt die Alkalische Phosphatase ab mittlerem Jejunum einen Abfall der Enzymaktivität, wie ihn Zindel (1980) bei natürlich infizierten Kälbern beschreibt. Diese Erscheinung dürfte auf die bei einer Rota Virus Infektion im Ileum beginnende und nach kranial sich ausbreitende Zellschädigung zurückzuführen sein.

Bezeichnenderweise ist die Reduktion zum Ileum hin und bei der länger erkrankten Infektionsgruppe II ausgeprägter.

Abweichend von bisherigen Untersuchungen, die allerdings nur von natürlich infizierten Tieren ausgehen, (Zindel 1980, Landsverk 1981b) ist im kranialen Jejunum die AP bei Gruppe I um das Doppelte, bei Gruppe II um knapp ein Viertel erhöht.

Dieses Phänomen der Steigerung - ein wesentliches Ergebnis meiner Untersuchungen - soll am Schluß der Einzeldiskussion besprochen werden.

Durch den virusbedingten Zellschaden und die Zottenatrophie verschiebt sich das Verhältnis apikale Enterozyten zu basalen zugunsten der letzteren. Die jedoch versuchen die Gesamtaktivität aufrecht zu erhalten. Dies erklärt die beobachtete Erhöhung der Enzymaktivität im basalen Zottenanteil.

Das Verhalten der AP in Enterozyten der Pseudovilli ist bislang nicht untersucht. Das Auftreten bei an Diarrhoe erkrankten Tieren könnte sich aus der Funktion erklären: soweit bekannt, ist die AP an aktiven Transportvorgängen in der Zellmembran beteiligt. Eine Enzymaktivierung entspricht demnach einer erhöhten Resorptionsleistung (Enterozyten der Villi) bzw. Phagozytoseleistung (Epithelzellen über Peyer'schen Platten).

Die Abnahme der Sauren Phosphatase im Ileum, die nur bei Gruppe II auftrat, dürfte auf eine Reduktion der Zottenlänge zurückzuführen sein.

Die Verschiebung der Enzymaktivität zur Zottenbasis dürfte auf das Fehlen der am höchsten ausdifferenzierten Zellen an der Zottenspitze zurückzuführen sein. Die dadurch induzierte Regeneration findet in einer deutlichen Kryptaktivitätssteigerung ihren Ausdruck.

Das teilweise Fehlen des Gradienten von Basis zur Spitze der Pseudovilli (Landsverk 1981c) bei infizierten Tieren zeigt sich auch bei eigenen Untersuchungen.

Die im kranialen Jejunum bei Gruppe I nur mehr angedeutete Aktivitätssteigerung der Leucinaminopeptidase dürfte auf dieselben Ursachen zurückzuführen sein wie bei den Phosphatasen. Ähnliche Befunde sind von Geflügel (Michael 1974) und Mensch (Riecken 1971) bekannt.

Bezüglich möglicher Interpretationen verweise ich auf den Schluß dieses Kapitels.

Bei Gruppe II kam es infolge längerer Lebensdauer post infectionem zu einer ausgeprägteren Zellschädigung und Zottenatrophie, was die gegenüber Gruppe I noch wesentlich niedrigeren Enzymaktivitätswerte erklärt. Insbesondere dürfte die Virusvermehrung im Dünndarm soweit fortgeschritten sein, daß auch im kranialen Jejunum Epitheldefekte auftreten. Die Gruppe II kommt den von Zindel (1980) beschriebenen Veränderungen am nächsten.

Eine Reduktion des Enzymgehalts an der Zottenspitze (Zindel 1980) ist nicht erkennbar, vielmehr besteht ein gleichmäßiges Enzymprofil. Der Unterschied könnte in der unterschiedlichen Infektionsdauer und der dadurch bedingten geringeren Zellschädigung liegen.

Die LAP im Epithel der Pseudovilli reagiert offensichtlich auf eine Diarrhoe nicht.

Die Aktivität in den Kryptepithelzellen dürfte - wie bei den Kontrolltieren bereits angesprochen - individuell verschieden sein.

Die Werte der ß-Galactosidase bei Gruppe I im mittleren und kaudalen Jejunum ergeben - verglichen mit denen des Ileums - kein schlüssiges Bild. Die Abweichung dürfte auf individuelle Schwankungen zurückzuführen sein.

Den niedrigen Ergebnissen bei Gruppe II liegen sicherlich dieselben Ursachen zugrunde wie bei bereits besprochenen Enzymen. Übereinstimmend wird Analoges von bis zu drei Wochen alten natürlich infizierten Kälbern berichtet (Halpin u. Caple 1976, Zindel 1980, Landsverk 1981b). Im Gegensatz zu Zindel (1980) konnte eine Reduktion der Zottenspitzenaktivität nicht gesehen werden.Möglicherweise war die Zottenatrophie bei den untersuchten Tieren nicht so stark ausgeprägt.

Die Aktivitätssteigerung der Succinatdehydrogenase im kranialen Jejunum ist im gleichen Sinn zu interpretieren wie die der bisher besprochenen Enzyme.

Vergleichbares ist von Geflügelinfektionen (Michael 1974) bekannt.

Der Aktivitätsverlust dürfte auf die Zellschädigung zurückzuführen sein. Er entspricht den Ergebnissen Zindels (1980), wenngleich dort im Ileum der Wert weitgehend dem der Kontrolle gleicht. Während bei längere Zeit erkrankten Kälbern die Kryptaktivität leicht absinkt (Zindel 1980), tritt bei den hier untersuchten ein gegensätzlicher Trend auf. Die Ursache könnte in einer Steigerung des Zellstoffwechsels zum Zwecke einer erhöhten Zellreproduktion liegen.

Das Enzymprofil entlang der Villi entspricht dem von Zindel (1980) beschriebenen.

Worauf das Absinken der SDH im Epithel der Pseudovilli zurückzuführen ist, ist unklar.

III. Infektion mit E.coli

In der Literatur gibt es bisher - ebenso wie für Rota Virus Infektion - keine Untersuchungen zum Verhalten von enteralen Enzymen des Kalbes nach Infektion mit E.coli allein. Die hier erarbeiteten Ergebnisse werden daher mit Untersuchungen an natürlich infizierten Tieren verglichen.

Auffallend ist das nahezu gleiche Verhalten der Alkalischen Phosphatase nach Infektion mit sehr unterschiedlichen Dosen von E.coli, obwohl nur bei der höheren Dosis Durchfall beob-

achtet wurde. Die Ursache hierfür ist nicht bekannt.

Die Abnahme der AP im Vergleich zu den Kontrollen entspricht den Ergebnissen Zindels (1980) bei natürlich mit verschiedensten Erregern infizierten Kälbern.

Da alle fünf untersuchten Enzyme in den Enterozyten der Pseudovilli keine Unterschiede zu den Kontrollen aufwiesen, ist anzunehmen, daß die Infektion mit E.coli keinen Einfluß auf das Enzymmuster dieser Zellen hat.

Die Aktivität der Sauren Phosphatase erreichte bei dem Tier das 10^7 E.coli erhielt und 24 h p.i. getötet wurde einen geringeren Wert als bei dem Tier, das 10^{10} E.coli erhielt, und 8 h p.i. getötet wurde. Die Enzymaktivität beider Tiere liegt deutlich unter der der Kontrolltiere. Offenbar kommt es in der Frühphase der Infektion zu einer Enzymaktivierung, die bei den hier untersuchten Fällen auf die SP beschränkt bleibt.

Ob dieses von den übrigen Enzymen abweichende Verhalten der SP als Folge einer spezifischen Toxinwirkung auf Lysosomen zu interpretieren ist, ist nicht endgültig zu beantworten, da die verwendete Tierzahl für eine Abklärung noch nicht ausreichend ist.

Die Verteilung entlang der Zotte stimmt mit den Ergebnissen Zindels (1980) überein.

Nachdem das Schwergewicht der morphologisch faßbaren Veränderungen im mittleren und distalen Jejunum liegt, finden sich bei der Leucinaminopeptidase auch dort die größten Veränderungen der Enzymwerte, die eine gewisse Dosisabhängigkeit aufweisen.

Eine Ausnahme bildet die LAP im kranialen Jejunum bei der Infektion mit der geringeren Dosis, wo sie deutlich höher liegt als der Kontrollwert. Dafür sind möglicherweise die noch zu besprechenden Anpassungsvorgänge verantwortlich.

Das für die LAP zur Enzymverteilung entlang des Dünndarms Gesagte, gilt auch für die ß-Galactosidase und die Succinatdehydrogenase. Die geringgradige Abnahme der SDH in den Kryptzellen des Ileums dürfte auf einer individuellen Schwankung beruhen.

IV. Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli

Alle fünf untersuchten Enzyme weisen entlang des gesamten Dünndarms eine Reduktion auf, die mit der morphologisch faßbaren Zellschädigung korreliert.

Offenbar kommt es durch die Kombination der zellschädigenden Wirkung von Rota Viren und der Wirkung des Enterotoxins der Coli-Bakterien zum Abfall der Enzymaktivität.

Die Epithelzellen der Pseudovilli verhalten sich analog zur Infektion mit Rota Viren allein.

Die hier erhobenen Befunde stimmen weitgehend mit den bereits mehrmals zitierten Ergebnissen von Zindel (1980) und Landsverk (1981 b,c) überein.

V. Infektion mit E.coli und anschließend Rota Virus

Diese Infektionsgruppe zeigt bei der Alkalischen Phosphatase nur einen leichten Enzymabfall, der sich bei der Sauren Phosphatase sogar auf das Ileum beschränkt. Bei den übrigen untersuchten Enzymen ist die Enzymreduktion größtenteils etwas deutlicher, erreicht allerdings nie das gravierende Ausmaß der Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli.

Die Erhöhung der Kryptaktivität bei SP, LAP und SDH dürfte als Ausdruck einer gesteigerten Regeneration von Epithelzellen zu werten sein.

Für die Pseudovilli gilt das bei der Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli Gesagte.

VI. Mischinfektion mit Rota Virus und E.coli gleichzeitig

Die Alkalische Phosphatase in den Enterozyten des nach kurzer Infektionsdauer getöteten Kalbes zeigt ein der Infektion mit Rota Virus allein analoges Muster. Das andere Tier weist ein eher der Infektion mit Rota Virus und E.coli gleichendes Bild auf. Letzteres entspricht den von Landsverk (1981b,c) und Zindel (1980) ermittelten Ergebnissen.

Das Verhalten der Sauren Phosphatase zeigt die gleiche Tendenz wie bei der Infektion mit Rota Virus allein, jedoch wesentlich deutlicher ausgeprägt.

Ähnliche Befunde wie bei Kalb Nr. 26 (kurzzeitige Infektion) finden sich in der Literatur bisher nicht. Die Ursache der Steigerung ist unbekannt. Ob es sich möglicherweise um Vorgänge im Sinne einer noch näher anzusprechenden Adaptation handelt, erscheint wenig wahrscheinlich, da nicht nur Teile des Jejunums erhöhte Enzymaktivität aufweisen, sondern das gesamte.

Das nach längerer Infektionsdauer getötete Tier entspricht in seinem Enzymmuster den Untersuchungen mit natürlich infizierten Kälbern (Landsverk 1981b,c, Zindel 1980).

Für die Leucinaminopeptidase, die ß-Galactosidase und die Succinatdehydrogenase gilt das bei der AP Gesagte. Bezüglich einer Interpretation der Aktivitätssteigerung im

kranialen Jejunum verweise ich auf den Schluß dieses Kapitels, die Enzymreduktion im distalen Dünndarm dürfte Folge der Zellschädigung sein.

Der erhöhten Enzymaktivität in den Kryptepithelzellen bei SP und SDH dürften dieselben Ursachen zugrunde liegen wie bei der Infektion mit E.coli und danach Rota Virus.

Die Pseudovilli verhalten sich ähnlich der zuvor besprochenen Infektionen mit Virusbeteiligung, mit der Ausnahme, daß die AP negativ ist. Ob dies auf individuelle Schwankungen oder auf den bei der Mischinfektion besonders ausgeprägten Zellschaden zurückzuführen ist, muß offen bleiben.

Abschließend läßt sich sagen, daß das Enzymmuster des nach kurzer Infektionsdauer getöteten Tieres dem der frühen Rota Virus Infektion gleicht. Erst bei Tier Nr. 36 treten die Effekte einer Infektion von Rota Virus und E.coli gleichzeitig auf und ergeben das Bild eines negativen Synergismus.

Da aus Kostengründen die Zahl der Versuchstiere begrenzt werden mußte, konnten die Tiergruppen nicht so groß gewählt werden, daß eine statistische Auswertung möglich wäre.

Versucht man die Auswirkungen der einzelnen Infektionen auf die Gesamtheit der Aktivität der hier untersuchten Enzyme zu vergleichen, so ergibt sich folgendes Bild: die stärksten Veränderungen werden durch eine gleichzeitige Infektion von Rota Virus und E.coli, insbesondere bei längerem Verlauf hervorgerufen. Danach folgt die Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli und dann diejenige mit E.coli und

danach Rota Virus. Es schließen sich die beiden Infektionen mit einem Erreger an, wobei offensichtlich E.coli die Mehrzahl der untersuchten Enzyme stärker beeinflußt als Rota Viren allein.

In die gleiche Richtung weisen die Ergebnisse der histologischen und elektronenmikroskopischen (Pospischil et al 1982, Pospischil 1982) sowie die der bakteriologischen (Baljer 1982) und virologischen (Hess et al 1982) Untersuchungen der hier ausgewerteten Kälber. Dabei traten bei der gleichzeitigen Infektion mit E.coli und Rota Virus die höchsten Rota Virus Titer im Kot auf. Bei der Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli waren die Keimzahlen (E.coli und Rota Virus) deutlich höher als bei der Infektion mit E.coli und danach Rota Virus.

Auch eine klinische und pathologische Wertung des Schweregrads analoger Infektionsgruppen, stimmt mit dem Bild, das sich aus den vorliegenden histochemischen Ergebnissen ergibt, überein (Mebus et al 1971, Gouet et al 1978, Moon 1978, Snodgrass et al 1982).

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß unbeschadet der Unterschiede zwischen den einzelnen Mischinfektionen ihr negativer Effekt auf die Enzymaktivität deutlich stärker ist als derjenige der Monoinfektionen.

Im Rahmen der Untersuchung zeigt sich, daß die Aktivitäten der einzelnen Enzyme im Verlauf einer Infektion sowohl sinken als auch steigen können.

Der Abfall der Enzymaktivität ist mit einer durch morphologische Methoden (Histologie und Elektronenmikroskopie) faßbaren Zellzerstörung korreliert (Pospischil et al 1982,

Pospischil 1982). Landsverk (1980) und Zindel (1980) konnten bei ihren Untersuchungen an natürlich infizierten Kälbern vergleichbare Befunde erheben.

Beide Autoren konnten jedoch keine Erhöhung der Enzymaktivität beobachten. Über die von ihnen untersuchten natürlich infizierten Tiere lagen keine genauen Angaben über den Infektionszeitpunkt vor. Da die Frühphasen der Erkrankung aber meist klinisch inapparent verlaufen, konnten diese Stadien, bei denen es wie in der vorliegenden Arbeit zur Enzymaktivierung kam, von Landsverk (1980) und Zindel (1980) nicht mit einbezogen werden.

Die Erhöhung der Enzymaktivität ist zu interpretieren als Ausdruck einer Anpassungsreaktion des Darms auf den infektionsbedingten Verlust von Teilen der zur Resorption befähigten Oberfläche. Vorgänge dieser Art wurden bisher für die akute Phase der Coccidieninfektion des Geflügels (Michael 1974),für eine bakterielle Infektion von Mäusen (Lust u. Beisel 1967), für Gluteinhypersensitivität (Riecken 1971) und die intestinale Lipodystrophie (Lojda et al 1970) des Menschen sowie für die Benzen Intoxikation von Mäusen (Jonek et al 1972) beschrieben. Auch wurde über morphologische Anpassungsvorgänge ("adaptation") der Darmschleimhaut nach Teilresektion des Ileums berichtet (Hanson 1982).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist der Nachweis gelungen, daß solche Anpassungsvorgänge auch in der Frühphase von enteralen Infektionen auftreten.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden verschiedene Dünndarmabschnitte von siebzehn Kälbern unter den Gegebenheiten unterschiedlicher experimenteller Infektionen auf die Enzymaktivität in den Epithelzellen untersucht.

Die Untersuchung umfaßt folgende Enzyme: Alkalische (AP) und Saure Phosphatase (SP), Leucinaminopeptidase (LAP), ß-Galactosidase und Succinatdehydrogenase (SDH). In Mono- und Mischinfektionen von Rota Virus und enteropathogenen E.coli bei kolostrumfrei ernährten Kälbern wurden diese Enzyme mit Kontrollwerten verglichen und in folgenden Infektionsgruppen überprüft: Rota Virus allein, E.coli allein, Rota Virus und anschließend E.coli, E.coli und anschließend Rota Virus sowie Rota Virus und E.coli gleichzeitig.

Vergleicht man die Auswirkungen der einzelnen Infektionen auf die Enzymaktivität, so findet man die gravierendsten Veränderungen in Form einer Verminderung der Enzymaktivität im Bereich des kaudalen Dünndarms bei der gleichzeitigen Infektion mit Rota Virus und E.coli, dann folgt die Infektion mit Rota Virus und anschließend E.coli. Es schließt sich die Infektion mit E.coli und danach Rota Virus an. Die Monoinfektionen beeinflußen die Enzymaktivität am wenigsten, wobei allerdings E.coli eine stärkere Veränderung hervorruft als Rota Virus allein.

Die verminderte Enzymaktivität im kaudalen Dünndarm korreliert mit dem in diesem Bereich durch die Infektion verursachten Zellschaden, der zur Zottenatrophie führt.

Neben verminderter Enzymaktivität im kaudalen Dünndarm wurde insbesondere bei folgenden Infektionen eine deutliche Erhöhung von Enzymen im kranialen Dünndarm beobachtet: Rota

Virus allein (AP, SP, LAP, SDH), E.coli-allein (LAP, ß-Galactosidase), Rota Virus und E.coli gleichzeitig bei kurzer Infektionsdauer (AP, SP, LAP).

Die Aktivitätszunahme im kranialen Dünndarm muß als kompensatorische Steigerung im Sinne einer Anpassungsreaktion interpretiert werden, die in dieser Arbeit erstmals in der Frühphase enteraler Infektionen des Kalbes beschrieben wird.

SUMMARY

Enzyme histochemical study of the intestine of calves experimentally infected with rotavirus and enterotoxigenic E.coli (ETEC) in different regimes.

Alkaline (AP) and acid phosphatase (SP), leucinaminopeptidase (LAP), ß-galactosidase and succinic dehydrogenase (SDH) were examined histochemically during experimental mono- and mixed infections with rotavirus and enterotoxigenic E.coli (ETEC) of colostrum deprived newborn calves. Different regimes of infection with rotavirus and E.coli (ETEC) were investigated: 1. rotavirus, followed by E.coli; 2. E.coli followed by rotavirus; 3. rotavirus and E.coli simultaneously as well as rotavirus and E.coli monoinfections.

The main effect, a reduction of enzym activities in the lower jejunum, is most obvious after a simultaneous infection of rotavirus and E.coli. This effect is less pronounced after an infection with rotavirus followed by E.coli and vice versa. Monoinfections with rotavirus and ETEC have a less severe influence on the enzyme activities, but the effect of an E.coli monoinfection is stronger than that of a rotavirus monoinfection. There is a correlation of epithelial cell damage to reduction of enzyme activities.

An increase of enzyme activity in the upper jejunum occurs in the early phase of rotavirus monoinfection (AP, SP, LAP, SDH), E.coli monoinfection (LAP, ß-gal.) and simultaneous infection with rotavirus and E.coli (AP, SP, LAP).

The increase of enzyme activity in the upper jejunum is discussed as an adaptation of the small intestinal enterocytes to a loss of total absorptive capacity. For the first time this has been described during enteric infections of calves.

LITERATURVERZEICHNIS

ABEL,J.H., R.W. PHILLIPS, L.D. LEWIS
Intestinal mucosae enzymatic and histochemical changes during infectious diarrhoea in calves.
Amer.J.dig.Dis. 17: 423-429 (1972)

ALLISON, A.C.
Lysosomes in virus-infected cells.
Perspect.Virol. 5: 29-61 (1967)

ALPERS, D.H.
Separation and isolation of rat and human intestinal ß-galactosidases.
J.Biol.Chem. 244: 1238-1246 (1969)

ASP, N.G., A. DAHLQUIST
Rat small-intestinal ß-galactosidase.
Biochem.J. 106: 841-845 (1968a)

ASP, N.G., A. DAHLQUIST
Rat small-intestinal ß-galactosidases. Kinetic studies with three separated fractions.
Biochem.J., 110: 143-150 (1968b)

ASP, N.G., O. KOLDOVSKY, J. HOSKOVA
ß-galactosidase activity of the jejunum and ileum of newborn, suckling and weaned rats; comparison of activities of ß-galactosidase towards different substrates at different pH.
Physiol.bohemoslov. 17: 229-236 (1968)

ASP, N.G., N.O. BERG, A. DAHLQUIST, J. JUSSILA, H. SALMI
The activity of three different small-intestinal ß-galactosidases in adults with and without lactase deficiency.
Scand.J.Gastroenterology 6: 755-775 (1971)

ASP, N.G., A. DAHLQUIST
Human small-intestinal ß-galactosidase: specific assay of three different enzymes.
Analyt.Biochem. 47: 527-538 (1972)

BACHMANN, P.A.
Infektionsrisiken für das Neugeborene.
Fortschritte d. Veterinärmedizin 30: 61-69 (1980)

BALJER, G., P.A. BACHMANN
Nachweis enterotoxischer Stämme und Rotaviren in Kotproben von Kälbern mit Diarrhoe.
Zbl.Vet.Med.B 27: 608-615 (1980)

BALJER, G.
persönliche Mitteilung (1982)

BARKA, T.
Fat absorption and acid phosphatase activity in intestinal epithelium of mice.
J.Am.Med.Assoc. 183: 761-764 (1963)

BARKA, T.
Electron histochemical localization of acid phosphatase activity in the small intestine of mouse.
J.Histochem.Cytochem. 12: 229-238 (1964)

BARKA, T., P.J. ANDERSON
Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosanilin as coupler.
J.Histochem.Cytochem. 10: 741-753 (1962)

BARTOLETUS, F.
Methodus in dyspnoeam seu de respiratoribus libri IV, quibus quintus pro colophone accessit de curationibus ex dogmaticorum et hermeticorum poenu depromtis.
Bologna, Bonoiae, S.400 (1633)
zit. nach KRETCHMER, N. Gastroenterology 61: 805-813 (1971)

BATT, R.M., T.J. PETERS
Analytical subcellular fractionation studies on enterocytes from the jejunum and ileum of the rat and some properties of brush border alkaline phosphatase.
Clin.Sci.Mol.Med. 55: 157-165 (1978)

BERGER, J., M.J. JOHNSON
The occurrence of leucylpeptidase.
J.Biol.Chem. 133: 157-172 (1940)

BRANDES, D., H. ZETTERQVIST, H. SHELDON
Histochemical technique for electron microscopy: alkaline phosphatase.
Nature 177: 382-383 (1956)

BROWN, H.H., H.W. MOON
Localization and activity of lysosomal enzymes in jejunal and ileal epithelial cells of the young pig.
Am.J.Vet.Res. 40: 1573-1577 (1979)

BUDDECKE, E.
Grundriss der Biochemie.
DeGruyter, Berlin, New York 1980

BURSTONE,M.S.
The relationship between fixation and techniques for the histochemical localization of hydrolytic enzymes.
J.Histochem. and Cytochem. 6: 322-339 (1958)

BURSTONE, M.S.
Histochemical comparison of naphtol-as-phosphates for the demonstration of phosphatases.
J.Nat.Canc.Inst. 20: 601-615 (1958)

BURSTONE, M.S., J.E. FOLK
Histochemical demonstration of aminopeptidase.
J.Histochem.Cytochem. 4: 217-226 (1956)

BURT, R.C., B.R. MEREDITH, R.G. GRAUER
Histochemical study of a fluoride resistant acid phosphatase reaction in the mouse duodenum.
J.Histochem.Cytochem. 5: 135-139 (1957)

BURTON, J.F.
Histochemical demonstration of acid phosphatase by an improved azo-dye method.
J.Histochem.Cytochem. 2: 88-94 (1954)

CHASE, W.H.
The demonstration of alkaline phosphatase activity in frozen-dried mouse gut in the electron microscope.
J.Histochem.Cytochem. 11: 96-101 (1963)

CLARK, S.L.
The ingestion of protein and colloidal materials by columnar absorptive cells of the small intestine in suckling rats and mice.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 5: 41-48 (1959)

CLARK, S.L.
The localization of alkaline phosphatase in tissue of mice, using the electron microscope.
Am.J.Anat. 109: 57-84 (1961)

CLARK, B., J.W. PORTEOUS
The intracellular location and metal-ion activation of the alkaline ß-glycerophosphatase of rabbit small intestine.
Biochem.J. 88: 20p-21p (1963)

COHEN, R.B., K.C. TSOU, S. RUTENBURG, A.M. SELIGMANN
Colorimetic estimation and histochemical demonstration of ß-D-galactosidase.
J.Biol.Chem. 195: 239-249 (1952)

CRANE, R.K.
Digestive-absorptive surface of the small bowel.
Annu.Rev.Med. 19: 57-68 (1968)

DAHLQUIST, A.
The localisation of carbohydrases in the digestive tract of the pig.
Biochem.J. 78: 282-288 (1961)

DAHLQUIST, A., C. NORDSTRÖM
The distribution of disaccharidase activities in the villi and crypts of the small-intestinal mucosa.
Biochim.Biophys.Acta 113: 624-626 (1966)

DAHLQUIST, A., N.G. ASP
Rat small intestine ß-galactosidase.
Biochem.J. 103: 86-91 (1967)

DAVIES, N.T., A.A. FLETT
The similarity between alkaline phosphatase (EC.3.1.3.1.) and phytase (EC.3.1.3.8.) activities in rat intestine and their importance in phytase induced zinc deficiency.
Br.J.Nutr. 39: 307-316 (1978)

DAWSON, J., J. PRYSE-DAVIES
The distribution of certain enzyme systems in the normal human gastrointestinal tract.
Gastroenterology 58: 96-107 (1970)

DEANE, H.W.
Nuclear location of phosphatase activity: fact or artifact.
J.Histochem. 11: 443-444 (1963)

DEANE, H.W., E.W. DEMPSEY
The localization of phosphatases in the Golgi region of intestinal and other epithelial cells.
Anat.Res. 93: 401-417 (1945)

DOELL, R.G., N. KRETCHMER
Studies of small intestine during development.
I. Distribution and activity of ß-galactosidase.
Biochim.Biophys.Acta (Amst.) 62: 353-362 (1962)

DOELL, R.G.,G.ROSEN, N. KRETCHMER
Immunochemical studies of intestinal dissaccharidases during normal and preccocious development.
Proc.nat.Acad.Sci.(Wash.) 54: 1268-1273 (1965)

DONGEN, van I.M., J. KOOYMAN, W.J. VISSER, S.J. HOLT, H. GALJAARD
The effect of increased crypt cell proliferation in the activity and subcellular localisation of esterases and alkaline phosphatase in the rat small intestine.
Histochem.J. 9: 61-75 (1977)

DUVE de C., R. WATTIAUX
Functions of lysosomes.
Ann.Rev.Physiol. 28: 435-492 (1966)

EICHHOLZ, A.
Fractions of the brush border.
Fed.Proc. 28: 30-34 (1969)

Enzym Nomenclature
Recommendations of the international union of biochemistry on the nomenclature and classification of enzymes.
New York: Elsevier 1972

EULER von H., K. JOSEPHSON
Enzymatische Spaltung von Dipeptiden.
Berl.Dtsch.Chem.Ges. 59: 226-233 (1926)

FARBER, E., W.H. STERNBERG, CH.E. DUNLAP
Histochemical localization of specific oxidative enzymes. III. Evaluation studies of tetrazolium staining methods.
J.Histochem.Cytochem. 4: 284-294 (1956)

FLOCH, M.H., S. van NOORDEN, H.M. SPIRO
Histochemical localization of gastric and small bowel mucosal enzymes of man, monkey and chimpanzee.
Gastroenterology 52: 230-238 (1967)

FORTIN-MAGANA, R., R. HURWITZ, J.J. HERBST, N. KRETCHMER
Intestinal enzymes: indicators of proliferation and differentiation in the jejunum.
Science 167: 1627-1628 (1970)

FOWLER, E.H., M.W. ROHOUVSKY
Enzyme histochemical activity in the small intestine of the germfree cat.
Am.J.Vet.Res. 31: 1423-1428 (1970)

FRIC, P., Z. LOJDA
Enzymes of the human jejunual mucosa.
Acta Gastroenterolog.belg. 27: 526-530 (1964)

FRIEDRICH, M.N., R. NOACK, G. SCHENK
Zur Lokalisation von peptidatischen und proteolytischen Aktivitäten in isolierten Bürstensäumen aus der Mucosa des Rattendünndarms.
Biochem.Z. 343: 346-353 (1965)

GLICKMANN, R.M., D.H. ALPERS, G.D. DRUMMEY, K.J. ISSELBACHER
Increased lymph alkaline phosphatase after fat feeding. Effects of medium chain triglycerides and inhibition of protein synthesis.
Biochim.Biophys.Acta 201: 226-235 (1970)

GODDARD, J.W., A.M. SELIGMAN
Intracellular topography of succinic dehydrogenase in the thyroid of the albino rat.
Anat.Rec. 112: 543-566 (1952)

GOLDFISCHER, S., E. ESSNER, A.B. NOVIKOFF
The localisation of phosphatase activities at the level of ultrastructure.
J.Histochem.Cytochem. 12: 72-95 (1964)

GOMORI, G.
Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections.
Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 42: 23-26 (1939)

GOMORI, G.
Distribution of acid phosphatase in the tissues under normal and under pathologic conditions.
Arch.Path. 32: 189-199 (1941)

GOMORI, G.
Histochemical studies of the gastrointestinal mucosa.
J.Nat.Cancer Inst. 13: 1039-1040 (1953)

GOMORI, G.
Chromogenic substrates for aminopeptidase.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 87: 559-561 (1954)

GOUET, P., M. CONTREPOIS, H.C. DUBOURGIER, Y. RIOU, R. SCHERRER, J. LAPORTE, J.F. VAUTHEROT, J. COHEN, R.L.HARIDON
The experimental production of diarrhoea in colostrum deprived axenic and gnotoaxenic calves with entero-pathogenic Escherichia coli, rotavirus, coronavirus and in a combined infection of rotavirus and E.coli.
Amn.Rech.Vet. 9: 433-440 (1978)

GRAY, G.M., N.A. SANTIAGO
Intestinal ß-galactosidases. I. Separation and characterization of three enzymes in normal human intestine.
J.Clin.Invest. 48: 716-728 (1969)

GREY, R.D., T. LECOUNT
Distribution of leucyl naphtylamidase and alkaline phosphatase on the villi of the chick duodenum.
J.Histochem.Cytochem. 18: 416-423 (1970)

GUTSCHMIDT, S., U. LANGE, E.O. RIECKEN
Kinetic characterization of unspecific alkaline phosphatase at different villus sites of rat jejunum.
Histochem. 69: 189-202 (1980)

HALPIN, G.C., I.W. CAPLE
Changes in intestinal structure and function of neonatal calves infected with reo virus-like agent and E.coli.
Austr.vet.J. 52: 438-441 (1976)

HANSTEIN, W.G., K.A. DAVIES, M.A. GHALAMBER, Y. HATEFI
Succinat dehydrogenase. II. Enzymatic properties.
Biochem. 10: 2517-2524 (1971)

HANSON, W.R.
Proliferative and morphological adaptation of the intestine to experimental resection.
Scan.J.Gastroenterology 17: Suppl. 74, 11-20 (1982)

HASEGAWA, H., H. NAGURA, K. WATANABE
Enzyme histochemical study of alkaline phosphatase activity in the intestinal absorbing cells of the suckling rats.
Acta Histochemica et Cytochemica 12: 504 (1979)

HEDERSTEDT, L., L. RUTBERG
Succinate dehydrogenase-a comparative review.
Microbiol.Rev. 45: 542-555 (1981)

HEILSKOV, N.S.C.
Studies on animal lactase.
Acta physiol.Scand. 24: 84-89 (1951)

HELANDER , H.F.
Enzyme patterns and protein absorption in rat colon during development.
Acta anat. 91: 330-349 (1975)

HENNING, S.G., N. KRETCHMER
Development of intestinal function in mammals.
Enzyme 15: 3-23 (1973)

HESS, R.G., P.A. BACHMANN, A. POSPISCHIL, G. BALJER, G. SCHMID, A. MAYR
Possible synergism between bovine rotavirus and enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC).
Veterinary Record (im Druck)

HOLT, I.D., D. MILLER
The localization of phosphomonoesterase and aminopeptidase in brush borders isolated from intestinal epithelial cells.
Biochim.Biophys.Acta. 58: 239-243 (1962)

HOLZEL, A., V. SCHWARZ, K.W. SUTCLIFFE
Defective lactose absorption causing malnutrition in infancy.
Lancet 1: 1126-1128 (1959)

HORNICH, M., E. SALAJKA, L. ULMANN, Z. ŠARMANOVÁ
Enteric E.coli infection in piglets: Enzyme histochemical activity in the small intestine of healthy and diarrhoeic piglets.
Acta Vet.Brno. 43: 335-346 (1974)

HSU, L., A.L. TAPPEL
Lysosomal enzymes and mucopolysaccharides in the gastrointestinal tract of the rat and pig.
Biochim.Biophys.Acta 101: 83-89 (1965)

HUGON, J., M. BORGERS
A direct lead method for the electron microscopic visualization of alkaline phosphatase activity.
J.Histochem.Cytochem. 14: 429-431 (1966a)

HUGON, J., M. BORGERS
Ultrastructural localisation of alkaline phosphatase activity on the absorbing cells of the duodenum of the mouse.
J.Histochem.Cytochem. 14: 629-640 (1966b)

HUGON, J., M. BORGERS
Fine structural localisation of lysosomal enzymes in the absorbing cells of the duodenal mucosa of the mouse.
J.Cell.Biol. 33: 212-218 (1967)

HUGON, J., M. BORGERS
Fine structural localisation of acid and alkaline phosphatase activities in absorbing cells of the duodenum of rodents.
Histochemie 12: 42-66 (1968a)

HUGON, J., M. BORGERS
Fine structural localisation of three lysosomal enzymes and non spezific alkaline phosphatase in the villus of the human duodenum.
Gastroenterology 55: 608-618 (1968b)

HUGON, J.,M. BORGERS
Ultrastructural differentiation and enzymatic localisation of phosphatases in the developing duodenal epithelium of the mouse.
Histochemie 19: 13-30 (1969)

JERVIS, H.R.
Enzymes in the mucosa of the small intestine of the rat, the Guinea pig, and the rabbit.
J.Histochem.Cytochem. 11: 692-699 (1963)

JOHNSON, F.R., I.H. KUGLER
The distribution of alkaline phosphatase in the mucosal cells of the small intestine of the rat, cat and dog.
J.Anat.(Lond.) 87: 247-255 (1953)

JONEK, J., M. KAMIŃSKI, H. LATOWSKA, O. KAMINSKA
The dynamics of histochemical changes in the epithelium of the small intestine of mice after experimental intraperitoneal intoxication with benzene.
Acta Histochem. 44: 15-28 (1972)

KABAT, E., J. FURTH
A histochemical study of the distribution of alkaline phosphatase in various normal and neoplastic tissues.
Amer.J.Pathol. 17: 303-317 (1941)

KLEIN, U.E.
Beziehungen zwischen histochemischen Nachweisorten und möglichen Funktionen sowie diagnostische Bedeutung der Isoenzyme alkalischer Phosphatase.
Acta Histochem.Suppl. 9: 285-286 (1971)

KLEIN, U.E., H.CH. DRUBE, H.TH. HANSEN
Untersuchung über Muster und Verteilung von Enzymen in der Schleimhaut des menschlichen Gastrointestinaltrakts.
Klin.Wschr. 45: 95-101 (1967)

KOLDOVSKY, O.
Development of the functions of the small intestine in mammals and man.
Krager, Basel 1969

KOLDOVSKY, O., F. CHYTIL
Postnatal development of ß-galactosidase activity in the small intestine of the rat.
Biochem.J. 94: 266-270 (1965)

KOLDOVSKY, O., H. MUZYČENKOVA, A. HERINGOVA, P. HAHN, V. JIRSOVÁ
Concerning the transport of lactose across the intestinal wall of infant rats.
Canad.J.Physiol.Pharmacol. 43: 469-471 (1965)

KOLDOVSKY, O., A. HERINGOVA, V. JIRSOVÁ
ß-Galactosidase activity of the jejunum and ileum of suckling rats. Comparison of activities of ß-galactosidase at different concentration of substrates (o-nitrophenyl-ß-D-galactosidase and lactose) at different pH.
Biol.Neonat. 10: 241-253 (1967)

KRAML, J., O. KOLDOVSKY, A. HERINGOVA, V. JIRSOVÁ, K. KÁCL, M. LEDVINA, H. PELICHOVÁ
Characteristics of ß-galcatosidases in the mucosa of the small intestine of infant rat. Physicochemical properties.
Biochem.J. 114: 621-627 (1969)

KRETCHMER, N.
Memorial lecture: Lactose and lactase - a historical perspective.
Gastroenterology 61: 805-813 (1971)

KUBÁT, K., O. KOLDOVSKY
The oxidative enzymes in the wall of the small and large intestine of young rats during postnatal development.
Acta Histochem. 33: 75-85 (1969)

LANDSVERK, T.
Histochemical distribution of enzymes in the small intestine of young milk-fed calves.
Acta vet.Scand. 21: 402-414 (1980)

LANDSVERK, T.
The epithelium covering Peyers patches in young milk-fed calves - an ultrastructural and enzyme histochemical investigation.
Acta vet.Scand. 22: 198-210 (1981a)

LANDSVERK, T.
An enzyme histochemical investigation of the intestinal mucosa in diarrheic calves.
Acta vet.Scand. 22: 449-459 (1981b)

LANDSVERK, T.
Peyers patches and the follicle-associated epithelium in diarrheic calves - pathomorphology, morphometry and acid phosphatase histochemistry.
Acta vet.Scand. 22: 459-472 (1981c)

LINSCHEER, W.G., J.R. MALAGELADA, W.H. FISHMAN
Disminished oleic acid absorption by L-phenylalanine inhibition of an intestinal phosphohydrolase.
Natur New Biol. 231: 116-117 (1971)

LOJDA, Z.
Some remarks concerning histochemical detection of disaccharidase and glucosidases.
Histochem. 5: 339-360 (1965)

LOJDA, Z.
Übersicht der wichtigsten zytochemischen Befunde an Enterozyten.
Acta histochem.Suppl. 9: 269-275 (1971)

LOJDA, Z., P. FRIC, J. JODL, V. CHMELIK
Cytochemistry of the human jejunal mucosa in the norm and in malabsorption syndrome.
Curr.Top.Path. 52: 1-63 (1970)

LOJDA, Z., J. KRAML
Indiogenic methods for glycosidases. III. An improved method with 4-Cl-5-Br-3-Indolyl-ß-D-Fucoside and its application in studies of enzymes in the intestine, kidney and other tissues.
Histochem. 25: 195-207 (1971)

LOJDA, Z., R. GROSSAU, T.H. SCHIEBLER
Enzymhistochemische Methoden.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1976

LUST, G., W. BEISEL
Alterations of alkaline phosphatase in mouse tissues after experimental infection.
Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 124: 812-816 (1967)

LUZ, A., W. GÖSSNER
The alkaline phosphatase in the small intestine of the mouse during radiation induced atrophy of the villi.
Beitr.Path. 148: 180-198 (1973)

MALIK, N., P.J. BUTTERWORTH
Molecular properties of rat intestinal alkaline phosphatase.
Biochim.Biophys.Acta 446: 105-114 (1976)

MEBUS, C.A., E.L. STAIR, N.R. UNDERDAHL, M.J. TWIEHAUS
Pathology of neonatal calf diarrhoea induced by a reo-like virus.
Vet.Path. 8: 490-505 (1971)

MENDEL, L.B., P.H. MITCHELL
Chemical studies on growth. I. The inverting enzymes of the alimentary tract, especially in the embryo.
Amer.J.Physiol. 20: 81-96 (1907)

MICHAEL, E.
Morphological and histochemical observations of the regenerated mucosa of the duodenum of the fowl after sub-total villous atrophy.
Histochem. 38: 361-371 (1974)

MILLINGTON, P.F., A.C. BROWN
Electron microscopic studies of the distribution of phosphatases in rat intestinal epithelium from birth to ten days after weaning.
Histochemie 8: 109-121 (1967)

MÖLBERT, E., F. DUSPIVA, O. von DEIMLING
Die histochemische Lokalisation der Phosphatase in der Tubulusepithelzelle der Mäuseniere im elektronenmikroskopischen Bild.
Histochem. 2: 5-22 (1960)

MOHR, H.J.
Histochemische Darstellung und feinzytologische Lokalisation der L-Leucinaminopeptidase (LAP) im Nierengewebe.
Beiträge path.Anat. 134: 52-64 (1966)

MOOG, F.
The functional differentiation of the small intestine. II. The differentiation of alkaline phosphomonoesterase in the duodenum of the mouse.
J.Exptl.Zool. 118: 187-208 (1951)

MOOG, F.
Cell, organism and milieu
17th Symposium of the Society for the study of development and growth
Ronald Press, New York 1959; S. 121

MOOG, F.
Development adaptions of alkaline phosphatases in the small intestine.
Fed.Proc. 21: 51-56 (1962)

MOOG, F., R.D. GREY
Spatial and temporal differentiation of alkaline phosphatase on the intestinal villi of the mouse.
J.Cell.Biol. 32: C1 (1967)

MOOG, F., R.D. GREY
Alkaline phosphatase isoenzymes in the duodenum of the mouse: Attainment of a pattern of spatial distribution in the normal development and under the influence of cortisone or actinomycin D.
Develop.Biol. 18: 481-500 (1968)

MOOG, F., E.H. BIRKENMEIER, H.S. GLAZIER
Leucylnaphtylamidase activity in the small intestine of mouse: normal development and influence of cortisone, actinomycine D and cycloheximide.
Develop.Biol. 25: 398-419 (1971)

MOOG, F., H.S. GLAZIER
Phosphate absorption and alkaline phosphatase activity in the small intestine of the adult mouse and of the chick embryo and hatched chick.
Comp.Biochem.Physiol. 42A: 321-336 (1972)

MOOG, F., K.J. YEH
Intestinal alkaline phosphatase of the rat: development and distribution of activity with phenylphosphate and ß-glycerophosphate.
Comp.Biochem.Physiol. 44: 657-666 (1973)

MOON, H.W.
Mechanisms in the pathogenesis of diarrhoea: A Review.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 172: 443-448 (1978)

MOON, H.W., A.W. McCLURKIN, R.E. ISAACSON, J. POHLENZ, S.M. SKARTVEDT, K.G. GILETTE, A.L. BAETZ
Pathogenic relationship of rotavirus, E.coli and other agents in mixed infections in calves.
J.Amer.Vet.Med.Ass. 173: 577-583 (1978)

MORALES, C.R.
Structural localization of alkaline phosphatase in the intestinal epithelium of the bovine with special reference to its enzymatic activity and electrophoretical properties.
Zbl.Vet.Med. C 9: 198-208 (1980)

MORIN, M., S. LARIVIERE, L. LALLIER
Pathological and microbiological observations made on spontaneous cases of acute neonatal calf diarrhoea.
Canad.J.comp.Med. 40: 228-240 (1976)

MORTON, R.K.
The phosphotransferase activity of phosphatases. —— 2. Studies with purified alkaline phosphomonoesterases and some substrate-spezific phosphatases.
Biochim.J. 70: 139-150 (1958)

MYLREA, D.J.
Digestion of milk in young calves.
Res.Vet.Sci. 7: 394-416 (1966)

NACHLAS, M.M., D.T. CRAWFORD, A.M. SELIGMAN
Cytochemical demonstration of leucine aminopeptidase.
J.Histochem.Cytochem. 5: 264-278 (1957a)

NACHLAS, M.M., K.C. TSOU, E. DE SOUZA, S.G. CHENG, A.M. SELIGMANN
Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole.
J.Histochem.Cytochem. 5: 420-436 (1957b)

NACHLAS, M.M., B. MONIS, D. ROSENBLATT, A.M. SELIGMANN
Improvement in the histochemical localization of leucine aminopeptidase with a new substrate L-leucyl-4-Methoxy-2-Naphtylamide.
J.Biophys.Biochem.Cytol. 7: 261-264 (1960)

NEAFSEY, P.J., R. SCHWARTZ
Serum and duodenal alkaline phosphatase levels in fed and fasted magnesium deficient rats.
J.Nutr. 107: 1061-1067 (1977)

NEGREL, R., G. AILHAUD
Localization of the monoglyceride pathway enzymes in the villus tips of intestinal cells and their absence from the brush border.
FEBS Letters 54: 183-188 (1973)

NOACK, R., O. KOLDOVSKY, M. FRIEDRICH, A. HERINGOVÁ, V. JIRSOVÁ, G. SCHENK
Proteolytic and peptidase activities of the jejunum and ileum of the rat during postnatal development.
Biochem.J. 100: 775-778 (1966)

NORDSTRÖM, C., A. DAHLQUIST, L. JOSEFFSSON
Quantitative determination of enzymes in different parts of the villi and crypts of rat small intestine. Comparison of alkaline phosphatase, disaccharidases and dipeptidases.
J.Histochem.Cytochem. 15: 713-721 (1968)

NORDSTRÖM, C., O. KOLDOVSKY, A. DAHLQUIST
Localization of ß-galactosidases and acid phosphatase in the small intestinal wall. Comparison of adult and suckling rat.
J.Histochem.Cytochem. 17: 341-347 (1969)

NORDSTRÖM, C., A. DAHLQUIST
Quantitative distribution of some enzymes along the villi and crypts of human small intestine.
Scand.J.Gastroenterology 8: 407-416 (1973)

NOVIKOFF, A.
GERL, its form and function in neurons of rat spinal ganglia.
Biol.Bull. 127: 358 A (1964)

NOVIKOFF, A., L. KORSON, H. SPATER
Alkaline phosphatase activity in the golgi substance of intestinal mucosa.
Exp.Cell.Res. 3: 617-618 (1952)

OGAWA, K., K. MASUTANIK, Y. SHINONAGA
Electron histochemical demonstration of acid phosphatase in the normal rat jejunum.
J.Histochem.Cytochem. 10: 228-229 (1962)

ONO, K.
The localization of alkaline phosphatase activity in the rat small intestinal epithelium after fat and protein feeding.
Acta Histochem.(Jena) 51: 124-137 (1974)

ONO, K.
The fine structure and localization of alkaline phosphatase activity of the small intestinal epithelium in the postnatal developing rat.
Acta Histochem.(Jena) 52: 117-133 (1975)

ONO, K.
Ultrastructural localization of acid phosphatase activity in the small intestinal absorptive cells of adult rats.
Histochemistry 62: 113-124 (1979)

ONO, K., R. YOKOTA
The fine structural localization of non-spezific alkaline phosphatase activity in the small intestine of the rat, an intravital perfusion experiment with azo-dye method.
Okajimas Folia Anatomica Japonica 48: 323-332 (1971)

OVERTON, J., A. EICHHOLZ, R.K. CRANE
Studies on the organization of the brush border in intestinal epithelial cells.
II. Fine structure of fractions of tris-disrupted hamster brush borders.
J.Cell.Biology 26: 693-706 (1965)

PADYKULA, H.A.
The localization of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat.
Amer.J.Anat. 91: 107-146 (1952)

PADYKULA, H.A.
Recent functional interpretations of intestinal morphology.
Fed.Proc. 21: 873-879 (1962)

PADYKULA, H.A., E.W. STRAUSS, A.J. LADMAN, F.H. GARDNER
A morphologic and histochemical analysis of the human jejunal epithelium in non tropical-sprue.
Gastroenterology 40: 735-765 (1961)

PEARSE, E.A.G.
Histochemistry. Theoretical and applied.
Churchill Livingstone, Edinburgh Lond. 1972; 1981

PEARSON, B.
Improvment in the histochemical localization of succinic dehydrogenase by the use of nitroneotetrazolium chloride.
J.Histochem.Cytochem. 6: 112-121 (1958)

PEARSON, B., V. DEFENDI
Histochemical demonstration of succinic dehydrogenase in thin tissue sections by means of 2-(p-iodophenyl)-3-(p-nitrophenyl)5-phenyl-tetrazolium chloride under aerobic conditions.
J.Histochem.Cytochem. 2: 248-257 (1954)

POHLENZ, J., D. PALMER, W. ZINDEL
Zur Pathologie und Pathognese der neonatalen Diarrhoe beim Kalb.
Schweiz.Arch.Tierheilkunde 121: 607-614 (1979)

POSPISCHIL, A., R.G. HESS, P.A. BACHMANN
Morphologische Befunde bei experimentellen und natürlichen Rota-Virus Infektionen von Kälbern und Ferkeln.
31. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Veterinär-Pathologie Göttingen (1982)

POSPISCHIL, A.
persönliche Mitteilung (1982)

RAUL, F., P. SIMON, M. KREIDINGER, K. HAFFEN
Intestinal enzymes activities in isolated villus and crypt cells during postnatal development of the rat.
Cell.Tiss.Res. 176: 167-178 (1977)

RIECKEN, E.O.
Histochemische Befunde bei Dünndarmschleimhautläsion vom hyperregeneratorischen Typ.
Acta Histochem.Suppl. 9: 279-281 (1971)

RHODES, J.B., A. EICHHOLZ, R.K. CRANE
Studies on the organization of the brush border in intestinal epithelial cells. IV. Aminopeptidase activity in microvillus membranes of hamster intestinal brush borders.
Biochim.Biophys.Acta 135: 959-965 (1967)

ROBINSON, G.B.
The distribution of peptidases in subcellular fractions from the mucosa of the small intestine of the rat.
Biochem.J. 88: 162-168 (1963)

RUTENBERG, A.M., A.M. SELIGMANN
The histochemical demonstration of acid phosphatase by a post incubation coupling technique.
J.Histochem.Cytochem. 3: 455-470 (1955)

RUTENBERG, A.M., S.H. RUTENBERG, M. MONIS, R. TEAGUE
A.M. SELIGMANN
Histochemical localization of ß-galactosidase in the rat.
J.Histochem.Cytochem. 6: 122-129 (1958)

SAINI, P.K., J. DONE
The diversity of alkaline phosphatase from rat intestine. Isolation and purification of the enzymes.
Biochim.Biophys.Acta 258: 147-153 (1972)

SALONIEMI, H., T. RAHKO
On the enzyme histochemistry in the ileum of the pig.
Nord.Vet.Med. 24: 151-155 (1972)

SCHOBEL, B., F. WEWELKA
Die Heterogenität der Leucinaminopeptidase.
Klin.Wschr. 40: 1048-1056 (1962)

SEDAR, A.W., CH. G. ROSA, K. TSOU
Tetranitro-blue tetrazolium and the electron histochemistry of succinic dehydrogenase.
J.Histochem.Cytochem. 10: 506-508 (1962)

SELIGMANN, A. M., A.M. RUTENBERG
The histochemical demonstration of succinic dehydrogenase.
Science 113: 317-320 (1951)

SHELDON, H., H. ZETTERQUIST, D. BRANDES
Histochemical reactions for electron microscopy: acid phosphatase.
Exptl.Cell.Res. 9: 592-596 (1955)

SNODGRASS, D.R., M.L. SMITH, F.L. KRAUTIL
Interaction of rotavirus and enterotoxigenic Escheria coli in conventionally-reared dairy calves.
Vet.Microbiol. 7: 51-60 (1982)

SPIRO, H.M., M.I. FILIPE, J.S. STEWART, C.C. BOOTH, A.G.F. PEARSE
Functional histochemistry of the small bowel mucosa in malabsorptive syndromes.
GUT 5: 145-154 (1964)

SPRAGUE, J.I., D.E. ULLREY, D.G. WADDILL, E.R. MILLER
C.L. ZUTAUT, J.A. HOEFER
Intestinal lactose, alkaline and acid phosphatase in the swine fetus and newborn pig.
J.Anim.Sci. 22: 121-124 (1963)

TAKAMATSU, H.
Histologische und biochemische Studien über die Phosphatase.
Trans.Soc.Path.Jap. 29: 492-500 (1939)

THUNBERG, T.
Studien über die Beeinflußung des Gasaustausches des überlebenden Froschmuskels durch verschiedene Stoffe.
Skand.Archiv.Physiol. 22: 430-436 (1909)

TONNER, P.G.
Cytology of intestinal epithelial cells.
Int.Rev.Cytol. 24: 233-343 (1968)

TOOFANIAN , F., F.W.G. HILL, D.E. KIDDER
The development of the intestinal disaccharidase activities in the fetal and newborn calf.
Res.vet.Sci. 16: 375-381 (1974)

TRIER, J.S., C.E. RUBIN
Electron microscopy of the small intestine: A review.
Gastroenterology 49: 574-603 (1965)

WACHSMUTH, E.D.
Lokalisation von Aminopeptidase in Gewebeschnitten mit einer neuen Immunofluoreszenztechnik.
Histochem. 14: 282-296 (1968)

WACHSMUTH, E.D.
Differentiation of epithelial cells in human jejunum: Localisation and quantification of aminopeptidase, alkaline phosphatase and aldolase isoenzymes in tissue sections.
Histochem. 48: 101-109 (1976)

WACHSMUTH, E.D., A. TORHORST
Possible precursors of aminopeptidase and alkaline phosphatase in the proximal tubulus of kidney and the crypt of small intestine of mice.
Histochem. 38: 43-56 (1974)

WACHSMUTH, E.D., P. DONNER
Conclusions about aminopeptidase in tissue sections from studies of amino acid naphthylamide hydrolysis.
Histochem. 47: 271-283 (1976)

WILKINSON, H.J.
Isoenzymes
Chapter 9, 2° Ed. Chapman and Hall Ltd. 11 New Fetter Lanc. London EC4 (1970)

WOHLGEMUT, K.
Diarrhoea in calves.
Proceedings 81st Ann.Meet.US Animal Health Assoc: 131-140 (1977)

YEDLIN, S.T., D.H. ALPERS
Characteristics of a unique soluable alkaline phosphatase in the suckling rat.
Gastroenterology 76: 1271 (Abstract) (1979)

YOUNG, G.P., S. FRIEDMANN, D.H. ALPERS
Effect of fat feeding on intestinal alkaline phosphatase.
Gastroenterology 78: 1297 (Abstract) (1980a)

YOUNG, G.P., S.T. YEDLIN, D.H. ALPERS
Biosynthesis of rat intestinal alkaline phosphatases.
Gastroenterology 78: 1297 (Abstract) (1980b)

ZINDEL, W.A.
Zur Pathogenese der Diarrhoe beim neonatalen Kalb: Funktionell-morphologische Untersuchungen.
Inangural-Dissertation Zürich 1980

Herrn Prof. Dr. J. von Sanderśleben danke ich für die Möglichkeit diese Arbeit anzufertigen sowie für wertvolle Hinweise zur Auswertung der Ergebnisse.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. A. Pospischil für die Anregung zu diesem Thema, seinen jederzeit gewährten Rat bei der Durchführung der Untersuchungen und die bereitwillige Unterstützung bei der Auswertung der Ergebnisse.

Für die Möglichkeit im Rahmen eines gemeinsamen Forschungsprogramms des Instituts für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin und des Instituts für Tierpathologie über enterale Mischinfektionen beim Kalb mitarbeiten zu können, danke ich Prof. Dr. P.A. Bachmann und Dr. R.G. Heß.

Frau E. Kemper danke ich für die wertvolle Hilfe bei der Anfertigung der Arbeit, Frau A. Siebert für die sorgfältige Einführung in die Arbeitsmethoden.

LEBENSLAUF

Maria Theresia Stiglmair	geb. am 24. Januar 1954 in Augsburg
Eltern	Paul Stiglmair, kaufm. Angestellter Erna Stiglmair, geb. Waas
Sept. 1960	Eintritt in die Volksschule Nordendorf
Sept. 1965	Übertritt ans Humanistische Gymnasium bei St. Stephan in Augsburg
Okt. 1974	Aufnahme des Studiums der Mathematik/ Physik an der Universität München
Okt. 1975	Studium der Tiermedizin an der Universität München
Dez. 1980	Abschluß des Tierärztlichen Staatsexamens
Jan. 1981	Beginn der vorliegenden Arbeit
Feb. 1981	Approbation als Tierärztin
seit Jan. 1982	Vollbeschäftigte Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Tierpathologie